

ฉบับนี้ขอสงวน



สำนักหอสมุด



การย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิกด้วยกระบวนการพลาสมาวิญญากาศของเหลว

DEGRADATION OF HYALURONIC ACID BY
LIQUID PHASE PLASMA PROCESS



นางสาวณัฐฐา กล้าณรงค์ รหัส 56365226
นายศรัณย์ อินสิงห์ รหัส 56365394

19238289 ✓

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยเกษตร
วันลงทะเบียน 27 ส.ค. 2561
เลขทะเบียน 19238289
เลขเรียกหนังสือ 15

น.ธ.ก
๒๕๕๙

ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมอุตสาหกรรม

คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตร

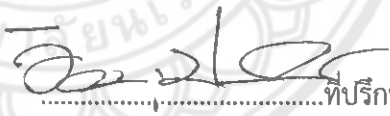
ปีการศึกษา 2559

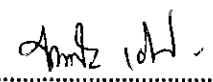


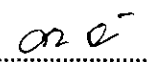
ใบรับรองปริญญาโท

ชื่อหัวข้อโครงการ การย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิกด้วยกระบวนการพลาสมาวิภาคของเหลว
ผู้ดำเนินโครงการ นางสาวณัฐธา กล้าณรงค์ รหัส 56365226
 นายศรัณย์ อินสิงห์ รหัส 56365394
ที่ปรึกษาโครงการ ผศ.ดร.อิศราวุธ ประเสริฐสังข์
สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี
ภาควิชา วิศวกรรมอุตสาหกรรม
ปีการศึกษา 2559

.....
คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบรบือ อนุมัติให้ปริญญาโทฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี


.....ที่ปรึกษาโครงการ
(ผศ.ดร.อิศราวุธ ประเสริฐสังข์)


.....กรรมการ
(ดร.วิฒนชัย เยาวรัตน์)


.....กรรมการ
(ดร.ภมรรัตน์ จันธรรม)

ชื่อหัวข้อโครงการ	การย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิกด้วยกระบวนการพลาสมาวิภาคของเหลว		
ผู้ดำเนินโครงการ	นางสาวณัฐรา	กล้าณรงค์	รหัส 56365226
	นายศรัณย์	อินสิงห์	รหัส 56365394
ที่ปรึกษาโครงการ	ผศ.ดร.อิศราวุธ ประเสริฐสังข์		
สาขาวิชา	วิศวกรรมเคมี		
ภาควิชา	วิศวกรรมอุตสาหการ		
ปีการศึกษา	2559		

บทคัดย่อ

ในปฏิญานิพนธ์ฉบับนี้ ได้ทำการศึกษาการย่อยสลายน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกด้วยกระบวนการพลาสมาวิภาคของเหลว โดยใช้ขั้วอิเล็กโทรดชนิดต่างๆ ได้แก่ ทั้งสแตนทองแดงและเหล็ก เวลาในการทรีท 0 ถึง 120 นาที ที่ความถี่ 15 กิโลเฮิร์ตซ์ ทั้งนี้ได้ทำการตรวจสอบคุณสมบัติต่างๆ ของกรดไฮยาลูโรนิกหลังผ่านกระบวนการทรีทด้วยพลาสมาวิภาคของเหลว โดยตรวจวัดความหนืดด้วย Ubbelohde Tube Viscometer ตรวจวัดน้ำหนักโมเลกุลด้วยเทคนิค Gel Permeation Chromatography (GPC) ตรวจสอบโครงสร้างทางเคมีก่อนและหลังกระบวนการทรีทด้วยพลาสมาด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) และตรวจสอบความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค DPPH Radical Scavenging Activity ตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่า หลังผ่านกระบวนการทรีทด้วยพลาสมาเป็นเวลา 120 นาที ความหนืดของกรดไฮยาลูโรนิกลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับการลดลงของน้ำหนักโมเลกุลกรดไฮยาลูโรนิก โดยขั้วอิเล็กโทรดเหล็กมีความสามารถในการย่อยสลายน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกสูงสุดที่ค่าคงที่อัตราการย่อยสลายเท่ากับ 4.62×10^{-4} ต่อนาที จากผลการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีพบว่า กระบวนการทรีทด้วยพลาสมาจะส่งผลให้น้ำหนักโมเลกุลลดลง แต่ไม่ส่งผลต่อโครงสร้างทางเคมีของกรดไฮยาลูโรนิก เมื่อนำตัวอย่างกรดไฮยาลูโรนิกไปตรวจสอบความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระพบว่ากรดไฮยาลูโรนิกที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำมีความสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกรดไฮยาลูโรนิกที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง

Title DEGRADATION OF HYALURONIC ACID BY LIQUID PHASE PLASMA
PROCESS

Author Nattha Klanarong ID No.56365226
 Sarun Insing ID No.56354394

Advisor Asst. Prof. Dr. Isarawut Prasertsung

Major field Chemical Engineering

Department Industrial Engineering

Year 2559

.....

Abstract

This research studied an application of solution plasma process (SPP) for degradation of hyaluronic acid. Various type of electrodes including tungsten (W), copper (Cu) and iron (Fe) were used. Plasma treatment time were varied from 0 to 120 minutes at the fixed applied pulse frequency of 15 kHz. Viscosity of hyaluronic acid solution was measured by ubbelohde tube viscometer. Molecular weight of plasma-treated and untreated hyaluronic acid solution was analyzed by Gel Permeation Chromatography (GPC). Chemical structure of plasma-treated and untreated hyaluronic acid was analyzed by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR). In addition, the effect of hyaluronic acid on antioxidant using DPPH Radical Scavenging Activity technical was also determined. The results showed that viscosity and molecular weight of hyaluronic solution treated by SSP were decreased significantly as the plasma treatment time increased. Maximum rate constant of plasma treatment of hyaluronic acid using iron electrode was measured to be $4.62 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1}$. Chemical analysis SSP treatment showed that strongly affected on molecular weight reduction of hyaluronic acid but exhibited not on the chemical structure. The antioxidant of low molecular weight hyaluronic acid was high in comparison to high molecular weight hyaluronic acid.

กิตติกรรมประกาศ

ปริญญาานิพนธ์ฉบับนี้ สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความอนุเคราะห์ความช่วยเหลือของหลายๆ ฝ่าย โดยเฉพาะ ผศ.ดร. อิศราวุธ ประเสริฐสังข์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการที่ได้ให้คำปรึกษา ให้ความรู้ แนะนำวิธีแก้ปัญหา รวมถึงข้อคิดเห็นต่างๆ เทคนิคการนำเสนอโครงการปากเปล่าตลอดจนความดูแลเอาใจใส่ในทุกขั้นตอนเพื่อให้การเขียนโครงการปริญญาานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ที่สุด ขอขอบคุณ คณะกรรมการปริญญาานิพนธ์อันประกอบไปด้วย ดร.วิฒนชัย เขาวรัตน์ และ ดร.ภมรรัตน์ จันธรรม ที่กรุณาให้คำแนะนำตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องของปริญญาานิพนธ์ด้วยความเอาใจใส่ จนทำให้ ปริญญาานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้อย่างสมบูรณ์

นอกจากนี้ต้องขอขอบคุณภาควิชาวิศวกรรมอุตสาหกรรม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ทำปริญญาานิพนธ์ฉบับนี้ ตลอดจนผู้ดูแลห้องปฏิบัติการที่คอยให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการเข้าใช้สถานที่และเครื่องมือเป็นอย่างดีมาโดยตลอด

สุดท้ายนี้ผู้ดำเนินโครงการขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ที่ได้ให้การดูแล อบรมสั่งสอนและให้กำลังใจด้วยดีเสมอมา ตลอดจนผู้มีพระคุณทุกท่านที่มีส่วนร่วมในการช่วยเหลือและให้กำลังใจด้วยดีเสมอมา ตลอดการดำเนินโครงการจนสำเร็จการศึกษา

คณะผู้ดำเนินโครงการวิศวกรรม

นางสาวณัฐฐา กล้าณรงค์

นายศรัณย์ อินสิงห์

พฤษภาคม 2560

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
ใบรับรองปริญญาโท.....	ก
บทคัดย่อ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ง
สารบัญ.....	จ
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญรูป.....	ซ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ที่มาและความสำคัญ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ.....	2
1.3 ขอบเขตในการดำเนินโครงการ.....	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 กรดไฮยาลูโรนิก.....	4
2.2 กระบวนการพลาสมาวิภาคของเหลว.....	6
2.3 น้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์.....	10
2.4 การวิเคราะห์พอลิเมอร์ด้วยเทคนิค FT-IR.....	21
2.5 เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	23
บทที่ 3 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย	
3.1 อุปกรณ์และสารเคมี.....	28
3.2 วิธีการทดลอง.....	29
3.3 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย.....	30
บทที่ 4 ผลและการวิเคราะห์ผลการทดลอง	
4.1 ผลของเวลาที่ใช้ในการทรีทและชนิดของข้อวี้เล็กโทรดที่มีต่อการเปลี่ยนแปลง ความหนืดของสารละลายกรดไฮยาลูโรนิก.....	34
4.2 ผลของพลาสมาที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกและ จลนพลศาสตร์ของการย่อยสลาย.....	38
4.3 การตรวจวัดคุณสมบัติทางเคมีของกรดไฮยาลูโรนิกด้วยเทคนิค FT-IR หลังผ่าน การย่อยสลายด้วยกระบวนการพลาสมาวิภาคของเหลว.....	43

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
4.4 ผลของน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกที่มีต่อความสามารถในการยับยั้ง อนุมูลอิสระ.....	44
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	
5.1 สรุปผลการทดลอง.....	48
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	48
เอกสารอ้างอิง.....	50
ภาคผนวก.....	54
ประวัติผู้จัดทำโครงการ.....	57



สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ 4-1 น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย (M_w) ของกรดไฮยาลูโรนิกหลังผ่านการย่อยสลายน้ำหนักโมเลกุลด้วยกระบวนการพลาสมาวัฏภาคของเหลว โดยใช้ซีวีเอเล็กโทรดชนิดต่างๆ ที่ความถี่ 15 กิโลเฮิรตซ์.....	39
ตารางที่ 4-2 ผลของการย่อยสลายน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกด้วยเทคนิคต่างๆ จากงานวิจัยที่ผ่านมาที่เวลาการย่อยสลาย 120 นาที.....	39
ตารางที่ 4-3 ค่าคงที่อัตราการย่อยสลายน้ำหนักโมเลกุลกรดไฮยาลูโรนิกและค่าความเป็นเส้นตรงของกราฟ.....	41
ตารางที่ 4-4 ผลของค่าคงที่อัตราการย่อยสลายน้ำหนักโมเลกุลกรดไฮยาลูโรนิกจากงานวิจัยที่ผ่านมา.....	41



สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
รูปที่ 2-1	โครงสร้างทางเคมีของกรดไฮยาลูโรนิก.....	4
รูปที่ 2-2	ภาพถ่ายและแบบจำลองของพลาสมาวิฏภาคของเหลว.....	7
รูปที่ 2-3	ไดอะแกรมของเครื่องกำเนิดพลาสมาวิฏจักรของเหลว.....	8
รูปที่ 2-4	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างองศาของการเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอร์ไรเซชันกับสมบัติเชิงกลและความหนืดของพอลิเมอร์.....	10
รูปที่ 2-5	กราฟการกระจายตัวน้ำหนักโมเลกุล (molecular weight distribution curve) ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักโมเลกุลกับสัดส่วนน้ำหนัก.....	12
รูปที่ 2-6	กราฟ logarithm ระหว่าง $[\eta]$ กับ M_w ของพอลิสไตรีนที่สังเคราะห์โดยกระบวนการ anionic polymerization โดยมีค่า polydispersity index เท่ากับ 1.06 ที่ได้จากการวัดความหนืดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ.....	14
รูปที่ 2-7	แสดงค่า intrinsic viscosity.....	16
รูปที่ 2-8	Viscometer แบบ Oswald และแบบ Ubbelohde.....	16
รูปที่ 2-9	การเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ที่มีรูพรุนของโมเลกุลพอลิเมอร์ที่มีขนาดต่างๆ.....	19
รูปที่ 2-10	ตัวอย่างของ GPC โครมาโตแกรมที่เกิดจากการไหลผ่านคอลัมน์ของพอลิเมอร์ที่มีขนาดต่างๆ ภายใต้อัตราการไหล.....	19
รูปที่ 2-11	ลักษณะ GPC โครมาโตแกรมในแบบต่างๆ.....	21
รูปที่ 2-12	ความยาวคลื่นของรังสีอินฟราเรด.....	22
รูปที่ 2-13	ส่วนประกอบของเครื่อง FT-IR.....	23
รูปที่ 3-1	ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย.....	29
รูปที่ 3-2	อุปกรณ์วัดความหนืด Ubbelohde tube viscometer.....	31
รูปที่ 4-1	ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความหนืดสัมพัทธ์ของกรดไฮยาลูโรนิกกับเวลาก่อนทรีทและหลังทรีทด้วยกระบวนการพลาสมาวิฏภาคของเหลว โดยใช้ขั้วอิเล็กโทรดทั้งสแตน ทองแดงและเหล็กที่ความถี่ 15 กิโลเฮิร์ตซ์.....	35

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
รูปที่ 4-2	35
รูปที่ 4-3	37
รูปที่ 4-4	40
รูปที่ 4-5	42
รูปที่ 4-6	43
รูปที่ 4-7	44
รูปที่ 4-8	46
รูปที่ 4-9	47
รูปที่ 4-10	47
รูป ก	56

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของโครงการ

กรดไฮยาลูโรนิกเป็นชีววัสดุชนิดพอลิแซคคาไรด์ที่มีโครงสร้างที่เชื่อมต่อระหว่าง D-glucuronic acid และ N-acetyl glucosamine โดยเชื่อมต่อผ่านหมู่ไกลโคซิดิกที่ตำแหน่ง β -(1, 4) และ β -(1, 3) ตามลำดับ กรดไฮยาลูโรนิกเป็นชีววัสดุที่มีคุณสมบัติหลากหลาย อาทิเช่น ความเข้ากันได้ทางชีวภาพ (biocompatibility) และย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (biodegradability) ดังนั้นจึงได้รับความนิยมนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ในเชิงอุตสาหกรรม เช่น อุตสาหกรรมอาหาร เกษษกรรม เครื่องสำอางและทางการแพทย์ โดยทั่วไปแล้วกรดไฮยาลูโรนิกจะมีน้ำหนักโมเลกุลได้หลายค่าขึ้นอยู่กับกระบวนการเตรียม ซึ่งน้ำหนักโมเลกุลดังกล่าวจะส่งผลต่อกิจกรรมทางด้านชีวภาพ (Biological activities) ของกรดไฮยาลูโรนิก จากรายงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่ากรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนักโมเลกุลต่ำและกรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนักโมเลกุลสูงจะมีคุณสมบัติที่แตกต่างกันอย่างสิ้นเชิงเมื่อนำไปใช้ในร่างกาย อาทิเช่น ระบบการต่อต้านทางภูมิคุ้มกันของร่างกาย (Immune response) การยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้องอก และการส่งเสริมการรักษาแผลที่ผิวหนัง [1-7,12] จากรายงานวิจัยของ Wu Yue. (2012) [6] พบว่ากรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนักโมเลกุลต่ำ มีศักยภาพในการนำไปประยุกต์ใช้เป็นวัสดุที่ส่งเสริมการสร้างหลอดเลือดได้อย่างมีประสิทธิภาพเมื่อเปรียบเทียบกับกรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนักโมเลกุลสูง ซึ่งจากรายงานการวิจัยดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าการย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิกเพื่อเตรียมกรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนักโมเลกุลต่ำจึงมีความสำคัญและได้รับความสนใจอย่างยิ่งจากนักวิจัย

ในการเตรียมกรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนักโมเลกุลต่ำสามารถทำได้หลายวิธี อาทิ การใช้สารเคมีชนิดกรด การใช้เทคนิคทางกล อาทิ อัลตราโซนิกร่วมกับสารเคมี การใช้กระบวนการทางความร้อนโดยใช้ไมโครเวฟ และการใช้หม้อองไว การเตรียมกรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนักโมเลกุลต่ำโดยการใช้สารเคมีชนิดกรด [3,5,6,8,13] อาทิ กรดแอสคอร์บิกสามารถทำได้ง่ายและใช้ต้นทุนต่ำ แต่ข้อด้อยของกระบวนการนี้คือจะก่อให้เกิดของเสียและการปนเปื้อนของสารเคมี กระบวนการใช้เทคนิคอัลตราโซนิกและไมโครเวฟร่วมกับสารเคมีเป็นกระบวนการเตรียมกรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนักโมเลกุลต่ำที่มีประสิทธิภาพ เนื่องจากใช้เวลาสั้นกว่ากระบวนการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว แต่ข้อเสียของกระบวนการนี้คือ เกิดความร้อนเกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการ ซึ่งความร้อนที่เกิดขึ้นจะส่งผลต่อคุณสมบัติของกรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนักโมเลกุลต่ำที่เตรียมได้ สำหรับกระบวนการเตรียมกรด

ไฮยาโลโรนิกน้ำหนักรโมเลกุลต่ำโดยการใช้หมู่ว่องไว กรดไฮยาโลโรนิกจะถูกย่อยสลายด้วยหมู่ว่องไว ไฮดรอกซิลซึ่งถูกผลิตขึ้นจากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ อย่างไรก็ตามกระบวนการนี้มีความยุ่งยากในการกำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ออกจากผลิตภัณฑ์ [3]

กระบวนการพลาสมาวิทยุภาคของเหลวเป็นกระบวนการใหม่ที่ถูกค้นพบโดย Takai O. (2008) [14] และนิยมนำไปประยุกต์ใช้งานทางด้านต่างๆ อาทิ การสังเคราะห์อนุภาคนาโน การปรับปรุงพื้นผิวของวัสดุ การบำบัดน้ำเสีย การฆ่าเชื้อ และการย่อยสลายสารอแกนิค กระบวนการพลาสมาวิทยุภาคของเหลวเป็นกระบวนการที่สามารถผลิตหมู่ว่องไวที่มีความสามารถในการเข้าทำปฏิกิริยาได้ดี อาทิ หมูไฮดรอกซิล (OH^{\cdot}) ซึ่งหมู่ว่องไวดังกล่าวสามารถชักนำให้เกิดการย่อยสลายสารอแกนิค นอกจากนี้แล้วกระบวนการพลาสมาวิทยุภาคของเหลวไม่จำเป็นต้องใช้สารเคมีในการดำเนินการ ดังนั้นจึงไม่มีการปนเปื้อนของสารเคมีในระบบ

การเตรียมกรดไฮยาโลโรนิกน้ำหนักรโมเลกุลต่ำโดยกระบวนการพลาสมาวิทยุภาคของเหลว โดยตัวแปรที่สนใจประกอบไปด้วย เวลาที่ใช้ในการทรีทพลาสมา และชนิดของอิเล็กโทรด กรดไฮยาโลโรนิกที่ผ่านการทรีทด้วยพลาสมาจะถูกนำไปตรวจสอบคุณลักษณะ อาทิ ความหนืด น้ำหนักรโมเลกุล สมบัติการดูดกลืนแสง องค์ประกอบทางด้านเคมี และความสามารถในการยับยั้งหมู่ออนุมูลอิสระ ผลที่ได้จากการศึกษานี้จะทำให้ได้สภาวะที่เหมาะสมเพื่อใช้เตรียมกรดไฮยาโลโรนิกน้ำหนักรโมเลกุลต่ำอย่างมีประสิทธิภาพ ผลิตภัณฑ์กรดไฮยาโลโรนิกที่เตรียมได้จากกระบวนการพลาสมาจะสามารถนำไปใช้งานทางการแพทย์ อาทิเช่น ผิวหนังทดแทน และสารยับยั้งหมู่ออนุมูลอิสระ กระบวนการเตรียมกรดไฮยาโลโรนิกน้ำหนักรโมเลกุลต่ำแบบใหม่ที่พัฒนาได้จะสามารถนำไปทดแทนกระบวนการดั้งเดิมคือการใช้สารเคมี การใช้เทคนิคอัลตราโซนิก การใช้กระบวนการทางความร้อน และการใช้หมู่ว่องไวที่มีต้นทุนสูงและมีการปนเปื้อนสารเคมีในกระบวนการได้อีกด้วย

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ

1.2.1 เพื่อศึกษาการเตรียมกรดไฮยาโลโรนิกน้ำหนักรโมเลกุลต่ำด้วยกระบวนการพลาสมาวิทยุภาคของเหลว

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของสภาวะของพลาสมาวิทยุภาคของเหลวที่ส่งผลต่ออัตราการย่อยสลายสารละลายกรดไฮยาโลโรนิก

1.2.3 เพื่อศึกษาผลของน้ำหนักรโมเลกุลของกรดไฮยาโลโรนิกที่เตรียมได้ต่อความสามารถในการยับยั้งหมู่ออนุมูลอิสระ

1.3 ขอบเขตในการดำเนินโครงการ

1.3.1 ติดตั้งเครื่องกำเนิดพลาสมาวิทยุภาคของเหลว

1.3.2 เตรียมสารละลายกรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนัก 0.3 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร และนำไปย่อยสลายด้วยพลาสมา โดยมีตัวแปรที่ศึกษาดังนี้

1.3.2.1 เวลาที่ใช้ในการย่อยสลายด้วยพลาสมา 0 ถึง 120 นาที

1.3.2.2 ชนิดของขั้วอิเล็กโทรด คือ ทั้งสแตน ทองแดงและเหล็ก

1.3.3 วิเคราะห์คุณลักษณะของกรดไฮยาลูโรนิกที่ได้หลังจากการย่อยสลายด้วยกระบวนการพลาสมาวิทยุภาคของเหลว

1.3.4 ตรวจวัดความหนืดด้วย Ubbelohde Tube Viscometer

1.3.5 ตรวจวัดน้ำหนักโมเลกุลด้วยเทคนิค Gel Permeation Chromatography (GPC)

1.3.6 ตรวจสอบโครงสร้างทางเคมีด้วยเทคนิค Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR)

1.3.7 ตรวจวัดความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค DPPH radical scavenging activity

1.3.8 ศึกษาจลนพลศาสตร์และอัตราการย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิกด้วยกระบวนการพลาสมาวิทยุภาคของเหลว

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 สามารถใช้วิธีการพลาสมาวิทยุภาคของเหลวซึ่งเป็นวิธีการใหม่ในการย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนักโมเลกุลสูงทดแทนวิธีอื่นที่มีต้นทุนในการดำเนินงานสูง

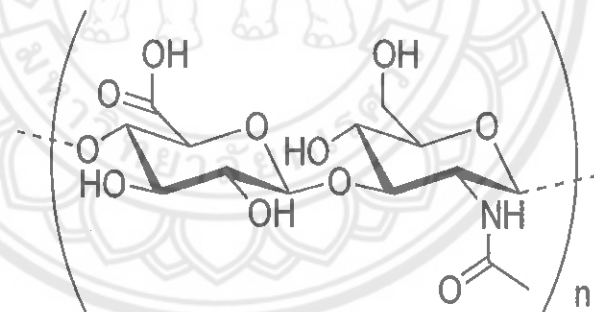
บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 กรดไฮยาลูโรนิก

2.1.1 โครงสร้างของกรดไฮยาลูโรนิก [1-5]

กรดไฮยาลูโรนิกเป็นชีวโพลีเมอร์ที่มีโครงสร้างที่เชื่อมต่อกันระหว่าง D-glucuronic acid และ N-acetyl glucosamine ดังแสดงในรูป 2-1 โดยเชื่อมต่อกันผ่านหมู่ไกลโคซิดิกที่ตำแหน่ง β -(1, 4) และ β -(1, 3) กรดไฮยาลูโรนิกเป็นสารที่พบได้ปกติในร่างกาย ส่วนใหญ่จะอยู่ในชั้นผิวและผลิตโดยเซลล์ไฟโบรบลาสต์ทั้งนี้สารไฮยาลูโรนิกเป็นองค์ประกอบหลักที่อยู่ระหว่างเซลล์ ทำหน้าที่ช่วยพยุงเนื้อเยื่อคอลลาเจน เส้นใยอีลาสติกต่างๆ รวมทั้งโครงสร้างที่อยู่ในชั้นผิวแท้ นอกจากนี้ยังสามารถพบได้ในอวัยวะต่างๆ ของสัตว์ อาทิ หงอนไก่ตัวผู้ หอยเชลล์ ตาปลา นิล เป็นต้น ในปัจจุบันนักวิจัยพยายามที่จะแยกกรดไฮยาลูโรนิกจากสัตว์ทะเลเพื่อให้มีแหล่งที่มาและเป็นทางเลือกที่หาได้ง่าย



รูปที่ 2-1 โครงสร้างทางเคมีของกรดไฮยาลูโรนิก [7]

2.1.2 คุณสมบัติของกรดไฮยาลูโรนิก [1,7,11]

กรดไฮยาลูโรนิกเป็นชีวโพลีเมอร์ที่สามารถพบได้ปกติในร่างกายของมนุษย์สังเคราะห์ได้จากสิ่งมีชีวิต อาทิ หอยเชลล์ เป็นต้น กรดไฮยาลูโรนิกเป็นชีวโพลีเมอร์ที่มีคุณสมบัติหลากหลาย อาทิ ความเข้ากันได้ทางชีวภาพ (biocompatibility) และย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (biodegradability) ในปัจจุบันกรดไฮยาลูโรนิกนิยมใช้อย่างกว้างขวางทั้งในด้านการแพทย์ ด้านอาหารซึ่งใช้เป็น ส่วนประกอบของอาหารซึ่งเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ ใช้ประโยชน์โดยใช้เป็นส่วนผสมในยารักษาโรค

และที่สังเกตเห็นโดยทั่วไปคือใช้เป็นสารชะลอความแก่ มักจะพบเห็นได้ในส่วนประกอบของครีมบำรุงผิวทั่วไป และในปัจจุบันมีการใช้งานในระดับอุตสาหกรรมมากขึ้น

2.1.3 การย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิก

กรดไฮยาลูโรนิกเป็นวัสดุชีวโมเลกุลที่เป็นพอลิแซ็กคาไรด์สายยาวที่ประกอบไปด้วยหน่วยไดแซ็กคาไรด์ซ้ำๆ กันหลายหน่วย มีสูตรโมเลกุลคือ $(C_{14}H_{21}NO_{11})_n$ กรดไฮยาลูโรนิกมีชื่อทางเคมีว่า Hyaluronic acid หรือ Hyaluronate Tetrasaccharide [20] กรดไฮยาลูโรนิกเป็นสารที่พบได้ปกติในร่างกายมนุษย์ ส่วนใหญ่จะอยู่ในชั้นผิวและผลิตโดยเซลล์ไฟโบรบลาสต์ และพบได้ในสัตว์หลายๆ ชนิด อาทิ หอยเชลล์ ปลาไนล หงอนไก่ ดังนั้นการสังเคราะห์กรดไฮยาลูโรนิกเพื่อนำมาใช้งานจึงนิยมสังเคราะห์จากสัตว์

กรดไฮยาลูโรนิกโดยทั่วไปมีน้ำหนักโมเลกุล 10^5 ถึง 10^7 กิโลดาลตัน ซึ่งมีความหนืดสูงและละลายในน้ำได้ยาก [1] ดังนั้นจึงเป็นข้อเสียในการนำกรดไฮยาลูโรนิกที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงมาใช้งาน ในปัจจุบันจึงมีงานวิจัยที่นำเสนอการย่อยสลายน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกโดยได้นำเสนอเทคนิคต่างๆ เพื่อย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิกให้มีการใช้งานง่ายและมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

ในการเตรียมกรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนักโมเลกุลต่ำสามารถทำได้หลายวิธี อาทิ การใช้สารเคมีชนิดกรด การใช้เทคนิคทางกล อาทิ อัลตราโซนิกร่วมกับสารเคมี การใช้กระบวนการทางความร้อนโดยใช้ไมโครเวฟและการใช้หม้อว่องไว การเตรียมกรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนักโมเลกุลต่ำโดยการใส่สารเคมีชนิดกรด [3,5,6,8,13] อาทิ กรดแอสคอร์บิกสามารถทำได้ง่ายและใช้ต้นทุนต่ำ แต่ข้อด้อยของกระบวนการนี้คือจะก่อให้เกิดของเสียและการปนเปื้อนของสารเคมี กระบวนการใช้เทคนิคอัลตราโซนิกและไมโครเวฟร่วมกับสารเคมีเป็นกระบวนการเตรียมกรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนักโมเลกุลต่ำที่มีประสิทธิภาพ เนื่องจากใช้เวลาสั้นกว่ากระบวนการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว แต่ข้อเสียของกระบวนการนี้คือ เกิดความร้อนเกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการ ซึ่งความร้อนที่เกิดขึ้นจะส่งผลต่อคุณสมบัติของกรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนักโมเลกุลต่ำที่เตรียมได้ สำหรับกระบวนการเตรียมกรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนักโมเลกุลต่ำโดยการใช้หม้อว่องไว กรดไฮยาลูโรนิกจะถูกย่อยสลายด้วยหม้อว่องไวไฮดรอกซิลซึ่งถูกผลิตขึ้นจากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ อย่างไรก็ตามกระบวนการนี้จะมีความยุ่งยากในการกำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ออกจากผลิตภัณฑ์ [3]

2.2 กระบวนการพลาสมาวัฏภาคของเหลว

2.2.1 พลาสมา (Plasma) [14]

พลาสมาถูกจัดเป็นสถานะที่ 4 ของสสาร เนื่องจากมีสมบัติบางประการที่แตกต่างจากของแข็ง ของเหลวและแก๊ส พลาสมาเกิดจากการแตกตัวของแก๊สที่เป็นกลาง กลายเป็นอนุภาคที่มีประจุหรือไอออน กระบวนการนี้เรียกว่า “กระบวนการแตกตัวเป็นไอออน (ionization)” โดยการแตกตัวจะเกิดขึ้นเมื่อแก๊สถูกกระตุ้นจากพลังงานภายนอก เช่น พลังงานไฟฟ้า พลังงานความร้อน ไมโครเวฟ และรังสียูวี เป็นต้น การกระตุ้นส่งผลให้อะตอมสูญเสียสภาพความเป็นกลางและเกิดการปลดปล่อยอิเล็กตรอน ปริมาณที่ใกล้เคียงกับประจุบวกส่งผลให้ประจุไฟฟ้าสุทธิของพลาสมาเป็นศูนย์ พลาสมาแสดงถึงพฤติกรรมเหมือนอนุภาคเป็นกลาง (Quasi-Neutral) และมีการอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม (Collective Behavior)

พลาสมาสามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภทคือ พลาสมาอุณหภูมิสูงและพลาสมาอุณหภูมิต่ำ พลาสมาอุณหภูมิสูงคือพลาสมาที่เกิดจากการให้พลังงานสูงแก่แก๊ส เพื่อให้แก๊สเกิดการแตกตัวเป็นไอออน ซึ่งแก๊สในระบบของพลาสมาประเภทนี้จะเกิดการแตกตัวเกือบสมบูรณ์และระบบประจุสุทธิอยู่ในสภาวะสมดุล เช่น ปฏิกิริยานิวเคลียร์ ไอพ่นเครื่องยนต์ เป็นต้น ส่วนพลาสมาอุณหภูมิต่ำคือ พลาสมาที่เกิดจากการให้พลังงานต่ำแก่แก๊สส่งผลให้เกิดการแตกตัวไม่สมบูรณ์ของไอออนในระบบอุณหภูมิต่ำ เช่น ระบบไฟฟ้ากระแสตรงที่ความดันต่ำ การปล่อยประจุด้วยคลื่นความถี่วิทยุ เป็นต้น

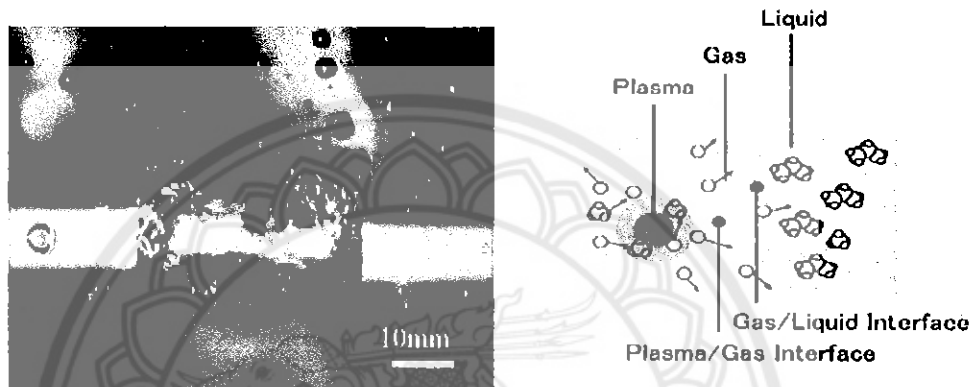
2.2.2 พลาสมาวัฏภาคของเหลว (Liquid Phase Plasma)

2.2.2.1 หลักการของพลาสมาวัฏภาคของเหลว [14]

พลาสมาวัฏภาคของเหลวคือ กระบวนการผลิตพลาสมาที่ล้อมรอบด้วยวัฏภาคของเหลวโดยใช้ความต่างศักย์ของไฟฟ้ากระตุ้นให้เกิดอนุมูลอิสระ (Free radical) ซึ่งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจะเข้าทำปฏิกิริยาได้เร็ว ข้อดีของพลาสมาวัฏภาคของเหลวคือ สามารถใช้งานได้หลากหลายเนื่องจากสามารถเลือกชนิดของตัวทำละลายและสารละลายที่ใช้ในการผลิตพลาสมาได้ ในปัจจุบันกระบวนการพลาสมาที่ได้รับความนิยมในการนำมาประยุกต์ใช้งานด้านต่างๆ อาทิ การสังเคราะห์อนุภาคนาโน การตัดแปลงพื้นผิวของโลหะและการบำบัดน้ำเสีย เป็นต้น

รูปแบบการเกิดพลาสมาวัฏภาคของเหลวแสดงไว้ในรูปที่ 2-2 โดยพลาสมาเกิดขึ้นที่ตำแหน่งตรงกลางระหว่างอิเล็กโทรดซึ่งถูกล้อมรอบด้วยแก๊สและของเหลวส่งผลให้เกิดผิวสัมผัสระหว่างสถานะ 2 บริเวณกระตุ้นด้วยแรงดันไฟฟ้าสูง เมื่อถึงจุดที่สารเกิดการแตกตัวเป็น

อนุภาคหรือสถานะพลาสมาที่สามารถนำไฟฟ้าได้จะทำให้เกิดพองแก๊สขึ้นบริเวณรอบๆ พลาสมา ในขณะที่พลาสมาถูกกระตุ้นด้วยแรงดันไฟฟ้าอย่างต่อเนื่องจะทำให้หมู่ว่องไวระหว่างชั้นอิเล็กโทรดเพิ่มมากขึ้น เกิดการเคลื่อนตัวไปอยู่บริเวณของเหลวที่มีหมู่ว่องไวระหว่างขั้วอิเล็กโทรดเพิ่มมากขึ้น เกิดการเคลื่อนตัวไปอยู่บริเวณของเหลวที่มีหมู่ว่องไวน้อยกว่า โดยอาศัยหลักการถ่ายโอนมวล ดังนั้น สารที่อยู่ในวิภาคของเหลวจะแพร่เข้ามาแทนที่และถูกกระตุ้นให้แตกตัวกลายเป็นหมู่ว่องไวต่อไป จากหลักการดังกล่าวส่งผลให้หมู่ว่องไวภายในสารละลายเพิ่มขึ้นจึงเกิดปฏิกิริยาเร็วขึ้นด้วย

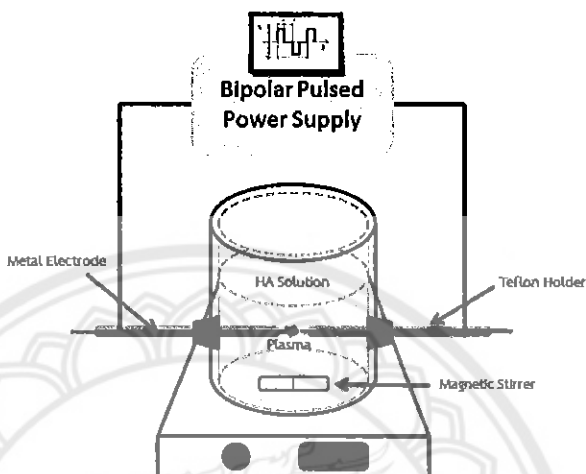


รูปที่ 2-2 ภาพถ่ายและแบบจำลองของพลาสมาวิภาคของเหลว [14]

2.2.2.2 เครื่องกำเนิดพลาสมาวิภาคของเหลว [15]

พลาสมาวิภาคของเหลวสามารถผลิตได้จากเครื่องกำเนิดพลาสมาดังแสดงในรูป 2-3 โดยเครื่องกำเนิดพลาสมาจะประกอบด้วยองค์ประกอบสำคัญ 2 ส่วนคือ ส่วนแรกเป็นเพาเวอร์ซัพพลายแรงดันและความถี่สูงระบบกระแสตรง ซึ่งเพาเวอร์ซัพพลายจะทำหน้าที่จ่ายกระแสไฟฟ้าแบบพัลส์ให้กับระบบ โดยมีทิศทางไหลของกระแสไฟฟ้าแบบสลับขั้วบวกและลบ (Bipolar pulsed) เนื่องจากแหล่งจ่ายไฟฟ้าโดยทั่วไปเป็นกระแสไฟฟ้าชนิดกระแสสลับ ดังนั้นจะต้องใช้อุปกรณ์ที่ติดตั้งไว้ในเพาเวอร์ซัพพลายที่มีหน้าที่ในการแปลงระบบไฟฟ้าจากกระแสสลับให้เป็นกระแสตรงก่อนที่จะจ่ายกระแสไฟฟ้าไปยังถังปฏิกรณ์พลาสมาเพื่อผลิตพลาสมาต่อไป สำหรับองค์ประกอบ 2 ส่วนคือ ถังปฏิกรณ์พลาสมา โดยทั่วไปแล้วนิยมทำจากแก้วรูปทรงกระบอกที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5 ถึง 10 เซนติเมตร ซึ่งตำแหน่งด้านข้างทั้งสองด้านของถังปฏิกรณ์จะติดตั้งอิเล็กโทรดที่ทำจากวัสดุทั้งสแตน ทองแดงและเหล็ก เส้นผ่านศูนย์กลาง 1 มิลลิเมตร และระยะห่างระหว่างขั้วอิเล็กโทรดประมาณ 0.2 มิลลิเมตร อิเล็กโทรดทั้งสองจะถูกหุ้มด้วยเซรามิกเพื่อ

ป้องกันความร้อนและการลัดวงจรของกระแสไฟฟ้าที่อาจเกิดขึ้นระหว่างกระบวนการผลิตพลาสมา ในการผลิตพลาสมาวัฏภาคของเหลวจะเชื่อมต่อเพาเวอร์ซัพพลายเข้ากับอิเล็กโทรดทั้งสองด้าน โดยใช้แรงดันและกระแสไฟฟ้าที่สูง โดยค่าแรงดันและความถี่ที่ใช้ในการผลิตพลาสมาขึ้นอยู่กับกรนำไฟฟ้า (Conductivity) ของสารละลายภายในเครื่องกำเนิดพลาสมา



รูปที่ 2-3 โดอะแกรมของเครื่องกำเนิดพลาสมาวัฏจักรของเหลว [15]

พลาสมาสามารถสร้างหมว่องไวในการเข้าทำปฏิกิริยากับสารละลายภายในเครื่องปฏิกรณ์ โดยหมว่องไวที่เกิดขึ้นเป็นสารตัวนำไฟฟ้าเมื่อโมเลกุลได้รับพลังงานจากกระแสไฟฟ้า จะแตกตัวเป็นไอออนที่สามารถนำไฟฟ้าได้ ไอออนต่างๆ เหล่านี้เรียกว่าหมว่องไว โดยหมว่องไวที่มักเกิดขึ้นระหว่างการทรินสารละลายด้วยพลาสมา เช่น Hydroxyl radical (OH^\bullet), Hydroperoxyl radical ($\text{H}_2\text{O}_2^\bullet$), Free electron (e^-), Superoxide anion (O^-) เป็นต้น นอกจากนี้ชนิดของขั้วอิเล็กโทรดยังมีผลต่อความสามารถในการสร้างหมว่องไว สีของแสงพลาสมาที่เกิดขึ้นระหว่างขั้วอิเล็กโทรดซึ่งอยู่ภายในสารละลายแสดงถึงชนิดของหมว่องไว

2.2.2.3 การประยุกต์ใช้พลาสมาวัฏจักรของเหลว

ในปัจจุบันพลาสมาวัฏภาคของเหลวได้รับความนิยมนำมาใช้กันอย่างแพร่หลาย อาทิ การสังเคราะห์อนุภาคนาโน การปรับปรุงพื้นผิวของวัตถุและการบำบัดน้ำเสีย เนื่องจากเป็นกระบวนการที่สามารถดำเนินการได้ทั้งในสภาวะความดันบรรยากาศและอุณหภูมิห้อง ซึ่งทำให้ต้นทุนที่ใช้ในกระบวนการพลาสมาวัฏภาคของเหลวต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับพลาสมาวัฏภาคแก๊ส [15]

การปรับปรุงผิวโลหะด้วยกระบวนการพลาสมาวิทยุภาคของเหลว [15]

ในการปรับปรุงพื้นผิวของโลหะด้วยพลาสมาจะใช้อลูมิเนียมเป็นขั้วแอโนด และขั้วแคโทดเป็นสแตนเลสสตีล สารละลายที่ใช้มีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ระหว่าง 8 และ 12 จากการศึกษาผลของค่ากระแสไฟฟ้าและความต่างศักย์ที่มีต่อการปรับปรุงพื้นผิวโลหะ พบว่าช่วงที่ให้ค่าความต่างศักย์ต่ำถึง 0 ถึง 50 โวลต์ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงพื้นผิวของขั้วแอโนดและแคโทด จากการเพิ่มค่าความต่างศักย์มากขึ้นจะสังเกตเห็นฟองอากาศเกิดขึ้นบนพื้นผิว เมื่อให้ค่าความต่างศักย์มากกว่า 175 โวลต์ พบว่าพื้นผิวของขั้วแอโนดเริ่มมีการเปลี่ยนแปลง นอกจากนั้นยังพบว่าค่าความต่างศักย์ที่ใช้ในกระบวนการพลาสมาจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นและชนิดของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ จากผลการศึกษาสันนิษฐานพื้นผิวด้วยเทคนิค SEM ของพื้นผิวโลหะ พบว่าพื้นที่ผิวชั้นนอกของอลูมิเนียมมีรูพรุนสูง ส่งผลให้ความแข็งแรงต่ำ ในขณะที่พื้นที่ผิวชั้นในของโลหะอลูมิเนียมจะมีความหนาแน่นของเนื้อโลหะสูงกว่าชั้นนอกและความแข็งแรงมากกว่า ทั้งนี้เนื่องจากพื้นที่ผิวชั้นนอกของอลูมิเนียมสัมผัสกับพลาสมาได้มากกว่าพื้นที่ผิวชั้นในทำให้พื้นที่ผิวมีการเปลี่ยนแปลงมากกว่า

การบำบัดน้ำเสียด้วยกระบวนการพลาสมาวิทยุภาคของเหลว [15]

การบำบัดน้ำเสียด้วยพลาสมาจะใช้ค่าความต่างศักย์ 800 โวลต์ เวลาที่ใช้ในการเปิด-ปิดพัลส์ 40 วินาที และสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่เหมาะสมในการบำบัดน้ำเสียด้วยพลาสมาคือสารละลาย Na_2SO_4 และ CH_3COONa จากการทดลองกับน้ำที่มีแบคทีเรีย E. Coil uc 41Q0 (แบคทีเรียแกรมลบ) และ Staphylococcus aureus (แบคทีเรียแกรมบวก) พบว่าการบำบัดน้ำเสียด้วยพลาสมาที่เวลาสูงสุด 30 วินาที แบคทีเรียที่อยู่ในสารละลายทั้งหมดแสดงให้เห็นว่าพลาสมาสามารถทำลายแบคทีเรียได้

การสังเคราะห์อนุภาคทองคำขนาดนาโนด้วยกระบวนการพลาสมาวิทยุภาคของเหลว [15]

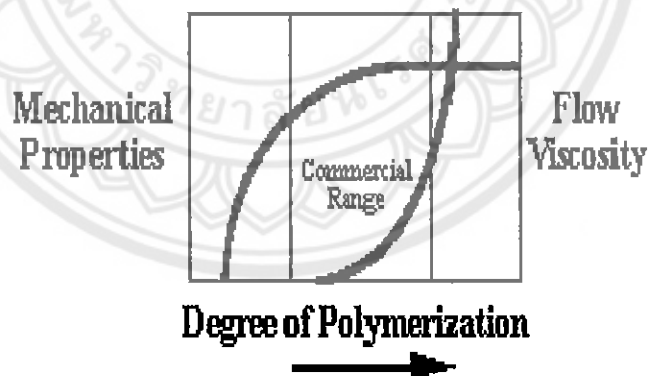
ในการสังเคราะห์อนุภาคทองคำขนาดนาโนด้วยพลาสมาจะสังเคราะห์ภายใต้สารละลาย HAuCl_4 ซึ่งเป็นสารละลายที่มีตัวทำละลายเป็นน้ำ (Aqueous solution) และไม่ใช่น้ำ (Nanoaqueous solution) ในระบบเปิด ในกระบวนการสังเคราะห์จะติดตั้งระบบพลาสมาแรงดัน

2.5 กิโลโวลต์ ความถี่ 60 เฮิร์ตซ์ Pulse width 2 μ s จากการศึกษาพบว่าอนุภาคนาโนที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยพลาสมาวิญญาศของเหลวโดยใช้สารละลาย HAuCl₄ ความเข้มข้น 0.6 มิลลิโมลาร์ มีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยสูงสุด 10.5 \pm 3.6 นาโนเมตร จากการศึกษาด้วยเทคนิค Energy dispersive x-ray analyzer (EDX) และ Infrared Spectroscopy (IR) พบว่าอนุภาคนาโนมีของเหลวที่ยังสามารถสังเคราะห์อนุภาคนาโนที่เป็นทองให้มีรูปร่างแบบเรขาคณิตที่แตกต่างกันได้ อาทิ สามเหลี่ยมห้าเหลี่ยมและหกเหลี่ยม โดยใช้สารละลายที่มีตัวทำละลายเป็นน้ำ ดังนั้น การสังเคราะห์อนุภาคนาโนในรูปแบบต่างๆ ได้

2.3 น้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์

2.3.1 ความสำคัญของน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ [16]

น้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์เป็นปัจจัยที่สำคัญที่ส่งผลกระทบต่อสมบัติด้านต่างๆ ของวัสดุดังกล่าว ทั้งในด้านความหนืดและสมบัติด้านการไหล (ซึ่งส่งผลกระทบต่อความสามารถในการขึ้นรูป) และสมบัติเชิงกล (เช่น ค่าการทนแรงดึง ค่าการยืดตัว) ดังนั้น น้ำหนักโมเลกุลที่ต่ำไปแสดงในรูปที่ 2-4 ดังนั้น การทราบค่าเฉลี่ยน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์จึงเป็นสิ่งสำคัญและเป็นสิ่งจำเป็นเพื่อเป็นประโยชน์ในการเลือกนำพอลิเมอร์ไปใช้งานได้อย่างเหมาะสม



รูปที่ 2-4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างองศาของการเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอร์ไรเซชันกับสมบัติเชิงกลและความหนืดของพอลิเมอร์ [16]

อย่างไรก็ตามเนื่องจากในความเป็นจริงแล้ว พอลิเมอร์สังเคราะห์ส่วนใหญ่จะมีน้ำหนักโมเลกุลที่ไม่เท่ากันทุกๆ โมเลกุล เนื่องจากมีปฏิกิริยาข้างเคียงเกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการ

สังเคราะห์ หรือแม้แต่พอลิเมอร์ที่ได้จากธรรมชาติ (เช่น ยางพารา) ก็จะมีน้ำหนักโมเลกุลที่หลากหลาย ดังนั้น การรายงานค่าน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์จึงต้องระบุเป็นค่าเฉลี่ย ซึ่งโดยทั่วไปจะมีการระบุได้สามลักษณะคือ ค่าเฉลี่ยน้ำหนักโมเลกุลโดยจำนวน (M_n) ค่าเฉลี่ยน้ำหนักโมเลกุลโดยน้ำหนัก (M_w) และค่าเฉลี่ยน้ำหนักโมเลกุลโดยความหนืด (M_v) ดังแสดงในสมการที่ (2.1) สมการที่ (2.2) และสมการที่ (2.3) ตามลำดับ

ค่าเฉลี่ยน้ำหนักโมเลกุลโดยจำนวน (M_n)

$$M_n = \frac{\sum(N_i M_i)}{\sum(N_i)} \quad (2.1)$$

ค่าเฉลี่ยน้ำหนักโมเลกุลโดยน้ำหนัก (M_w)

$$M_w = \frac{\sum(N_i M_i^2)}{\sum(N_i M_i)} \quad (2.2)$$

ค่าเฉลี่ยน้ำหนักโมเลกุลโดยความหนืด (M_v)

$$M_v = \left[\frac{\sum N_i M_i^{1+a}}{\sum N_i M_i} \right]^{1/a} \quad (2.3)$$

เมื่อ a = ค่าคงที่ Mark-Houwink ซึ่งโดยทั่วไปจะมีค่าอยู่ในช่วงประมาณ 0.5 ถึง 0.8

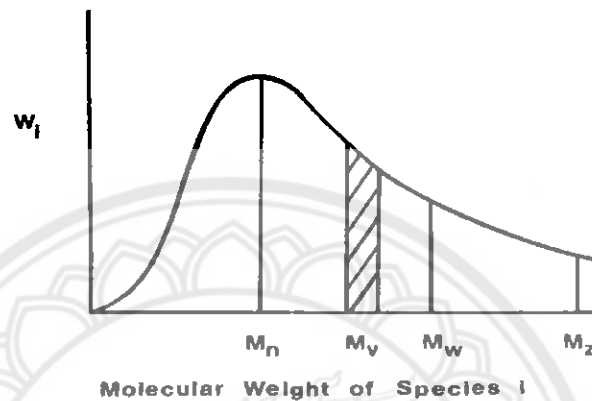
N = จำนวนโมเลกุลในสารตัวอย่างพอลิเมอร์ที่ทำการวิเคราะห์

M = น้ำหนักโมเลกุลของแต่ละสายโซ่

ซึ่งการเฉลี่ยในแต่ละแบบจะให้ค่าตัวเลขที่แตกต่างกัน โดยการเฉลี่ยแบบจำนวน (M_n) จะให้ค่าน้อยที่สุดในขณะที่การเฉลี่ยแบบน้ำหนัก (M_w) ให้ค่ามากที่สุด สำหรับการเฉลี่ยแบบ

ความหนืด (M_v) จะให้ค่าอยู่ในระหว่าง M_n กับ M_w และโดยทั่วไปแล้วค่าจะเข้าใกล้ M_w มากกว่า M_n ดังแสดงในรูปที่ 2-5

อนึ่งในรายงานค่าเฉลี่ยน้ำหนักโมเลกุลพอลิเมอร์นั้น สามารถใช้ได้ทั้ง 3 แบบ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของเทคนิควิเคราะห์ที่เข้าจะเป็นค่าเฉลี่ยแบบใด สิ่งสำคัญคือ การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ควรจะใช้ค่าเฉลี่ยประเภทเดียวกันมาพิจารณา



รูปที่ 2-5 กราฟการกระจายตัวน้ำหนักโมเลกุล (molecular weight distribution curve)

ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักโมเลกุลกับสัดส่วนน้ำหนัก [16]

นอกจากนี้เมื่อพิจารณาอัตราส่วนระหว่าง M_w กับ M_n จะได้ค่า Polydispersity index (PDI) ซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกความกว้างของกราฟ กล่าวคือ ถ้า M_w มีค่าห่างจาก M_n มาก PDI จะมีค่าสูงและกราฟที่ได้จะมีความกว้างมาก ในทางตรงกันข้ามถ้า M_w มีค่าใกล้เคียงกับ M_n มากค่า PDI จะมีค่าเข้าใกล้ 1 และกราฟที่ได้จะมีลักษณะแคบมากๆ สำหรับในกรณีที่ค่า PDI มีค่าเท่ากับ 1 นั้นหมายความว่าสารตัวอย่างพอลิเมอร์ดังกล่าวมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากันทุกโมเลกุล (monodisperse Polymer) ซึ่งมีโอกาสเกิดขึ้นได้น้อย ยกเว้นพอลิเมอร์ที่ผ่านกระบวนการสังเคราะห์โดยกระบวนการแบบ living Polymerization

ความสำคัญของค่า PDI อยู่ที่การนำไปใช้งาน เช่น ในงานด้านการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ด้วย เทคนิค gel permeation chromatography (GPC) จำเป็นที่จะต้องใช้สารมาตรฐาน (standard) มาประกอบกรวิเคราะห์ ซึ่งในการนี้จะต้องใช้สารมาตรฐานพอลิเมอร์ที่มีค่า PDI เท่ากับ 1 เท่านั้น ส่วนในงานอื่นๆ ทั่วไปสามารถใช้พอลิเมอร์ที่มีค่า PDI มากกว่า 1 ได้ เนื่องจากสังเคราะห์ได้ง่ายกว่าและราคาถูกกว่า

2.3.2 เทคนิคสำหรับหาค่าเฉลี่ยน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ [16]

ค่าเฉลี่ยน้ำหนักโมเลกุลแต่ละแบบได้มาจากการทดลองร่วมกับการทำการคำนวณด้วยเทคนิคต่างๆ ดังนี้

2.3.2.1 End group analysis (absolute method)

2.3.2.2 Osmometry (absolute method)

2.3.2.3 Viscometry

2.3.2.4 Gel permeation Chromatography

2.3.2.5 Light scattering (absolute method)

Viscometry [16]

ในขณะที่เทคนิค colligative (เช่น end group analysis และ osmometry) และเทคนิค light scattering (LS) ให้ผลการวัดน้ำหนักโมเลกุลเป็นค่าสัมบูรณ์ (absolute) (หมายความว่าน้ำหนักโมเลกุลสามารถคำนวณได้โดยตรงโดยไม่ต้องอาศัยข้อมูลด้านโครงสร้างเคมีพอลิเมอร์) แต่การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเหล่านี้จะใช้เวลา ค่อนข้างมากและบางครั้งจะต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาแพง ดังนั้นการเทคนิคอย่างง่าย เช่น การวัดความหนืด (viscometry) จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ โดยหลักการของ viscometry จะเป็นการวัดความหนืดแบบ intrinsic viscosity ของสารละลายพอลิเมอร์เจือจางเพื่อหาค่าเฉลี่ยน้ำหนักโมเลกุลแบบความหนืด (M_v) โดยอาศัยหลักความจริงที่ว่าน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์จะสัมพันธ์กับความหนืด กล่าวคือยิ่งพอลิเมอร์มีน้ำหนักโมเลกุลสูงก็จะยิ่งทำให้ความหนืดของสารละลายพอลิเมอร์หรือความหนืดของพอลิเมอร์ในขณะไหลมีค่าสูงขึ้น สำหรับในกรณีของสารละลายพอลิเมอร์ค่าความหนืดกับน้ำหนักโมเลกุลจะสัมพันธ์กันตามสมการของ Mark-Houwink ดังแสดงในสมการที่ (2.4)

$$\eta = kM_v^a \quad (2.4)$$

เมื่อ η = intrinsic viscosity

k และ a = ค่าคงที่ Mark-Houwink

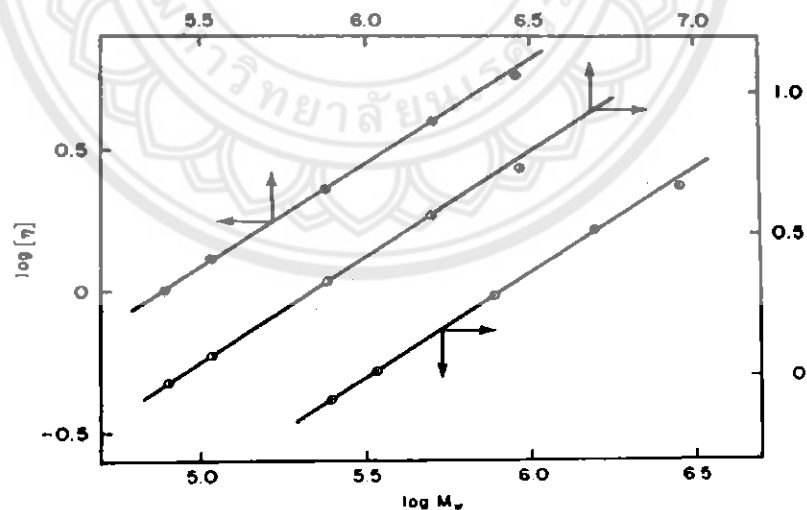
ซึ่ง k และ a จะเป็นค่าคงที่เฉพาะของแต่ละคู่ของพอลิเมอร์และตัวทำละลายที่อุณหภูมิหนึ่งๆ กล่าวคือ ถ้าเปลี่ยนชนิดของตัวทำละลายหรือใช้อุณหภูมิในการวัดความหนืดเปลี่ยนไป จะใช้ค่า k และ a เดิมในการคำนวณไม่ได้ โดยทั่วไปแล้ว a จะมีค่าอยู่ระหว่าง 0.5 ถึง 1

การหาค่าคงที่ k และ a

หลักการในการหาค่าคงที่ k และ a จะอาศัยสมการที่ได้จากการใส่ค่า natural log (\ln) ของสมการ Mark-Houwink ดังแสดงในสมการ (2.5)

$$\ln [\eta] = \ln(k) + a \ln[m_v] \quad (2.5)$$

จากนั้นจะทำการวัดค่า intrinsic viscosity $[\eta]$ ของสารตัวอย่างพอลิเมอร์ที่ทราบค่า M_v มาแล้วจากเทคนิคอื่นๆ เช่นในกรณีของ monodisperse polymer อาจจะทราบ M_n หรือ M_w จากเทคนิคอื่น (เช่น Osmometry, LS) และถ้าถือว่า $M_v = M_n = M_w$ (เนื่องจากเป็น monodisperse) ดังนั้นเมื่อทำการวัดค่า intrinsic viscosity แล้วทำการ plot กราฟระหว่าง $\ln[\eta]$ กับ $\ln[M_v]$ จะได้ค่าความชันเท่ากับ a และจุดตัดแกน y เท่ากับ $\ln k$ ดังแสดงตัวอย่างในรูปที่ 2-6



รูปที่ 2-6 กราฟ logarithm ระหว่าง $[\eta]$ กับ M_w ของพอลิสไตรีนที่สังเคราะห์โดยกระบวนการ anionic polymerization โดยมีค่า polydispersity index เท่ากับ 1.06 ที่ได้จาก การวัดความหนืดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ดังนี้ เบนซีน (จุดทึบ) โทลูอีน (จุดกึ่งทึบ) และไดคลอโรเอธิลีน (จุดโปร่ง) [16]

สังเกตว่าในกรณีของสารตัวอย่างพอลิเมอร์ที่มีค่า PDI มากกว่า 1 (polydisperse polymer) หรือมีค่า M_v , M_n , M_w จะอนุโลมให้นำค่า M_w ที่วัดจากเทคนิคอื่นมาใช้ในการคำนวณหา ค่า k และ a เนื่องจากถือว่า ค่า M_v เข้าใกล้ M_w มากกว่า M_n (โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้า polydispersity น้อยกว่า 3 ค่า M_w กับ M_v จะต่างกันไม่กี่เปอร์เซ็นต์) อนึ่ง ในปัจจุบันค่า k และ a ในระบบต่างๆ ได้มี ผู้ทำการศึกษาทดลอง ดังนั้นผู้ใช้สามารถเลือกตัวทำละลาย อุณหภูมิทดสอบ และชนิดพอลิเมอร์ได้ ตรงกับเงื่อนไขสถานะในตารางค่าคงที่ k และ a ใน Handbook เพื่อนำไปคำนวณหาค่า M_v ของสาร ตัวอย่างพอลิเมอร์ โดยการวัดความหนืด

การหาค่า intrinsic viscosity เพื่อใช้ในการคำนวณหา M_v

ค่า $[\eta]$ จะได้จากสมการที่สำคัญ 2 สมการ คือ Huggins equation และ Kramer equation ดังแสดงในสมการที่ (2.6) และ (2.7) ตามลำดับ

1. Huggins equation

$$\frac{\eta_{sp}}{C} = [\eta] + k'[\eta]^2 C \quad (2.6)$$

เมื่อ C = ความเข้มข้นของสารละลายพอลิเมอร์

η_{sp} = specific viscosity

k' = Huggins coefficient

k' มีค่า $\sim 1/3$ ใน good solvent

มีค่า 0.5 ถึง 1 ใน poor solvent

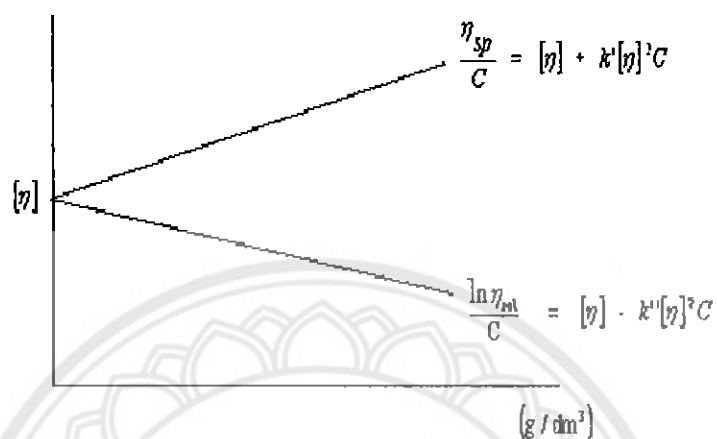
2. Kramer equation

$$\frac{\ln \eta_{rel}}{C} = [\eta] - k''[\eta]^2 C \quad (2.7)$$

เมื่อ η_{rel} = relative viscosity

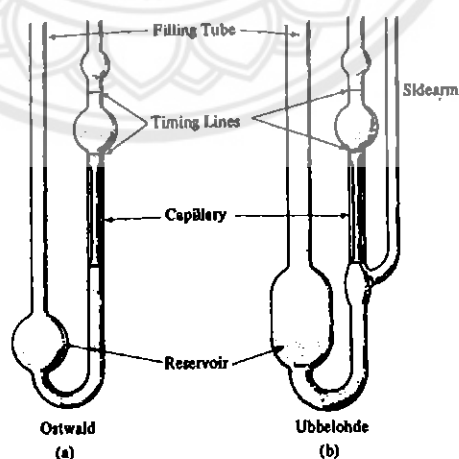
k'' = Kramer coefficient

ซึ่งจากรูป 2-7 จะสังเกตเห็นกราฟเส้นที่ควรจะมีจุดตัดแกน Y เดียวกัน (ซึ่งมีค่าเท่ากับ intrinsic viscosity) ส่วน k' และ k'' สามารถคำนวณได้จากค่าความชันของกราฟที่มาจากแต่ละสมการ



รูปที่ 2-7 แสดงค่า intrinsic viscosity [16]

ในทางปฏิบัติ ค่า η_{sp} และ η_{rel} จะได้มาจากการวัดความหนืดของสารละลายพอลิเมอร์ที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้เครื่อง viscometer ในแบบต่างๆ (รูปที่ 2-8)



รูปที่ 2-8 Viscometer แบบ Ostwald และแบบ Ubbelohde [16]

โดยที่ค่าความหนืดที่วัดได้จากการไหลของสารผ่าน Capillary ในเครื่อง Viscometer นั้นสามารถหาค่าได้จากสมการที่ (2.8)

$$\eta = At\rho \quad (2.8)$$

เมื่อ

η = ความหนืดของสารละลายพอลิเมอร์

A = พื้นที่ของ Viscometer

t = เวลาในการไหลจากจุดวัด

ρ = ความหนาแน่นของสารละลาย

ดังนั้นอัตราส่วนระหว่างค่าความหนืดของสารละลายพอลิเมอร์ (η) กับค่าความหนืดของตัวทำละลายบริสุทธิ์ (η_0) จะมีค่าเท่ากับค่า relative viscosity (η_{rel}) ดังแสดงในสมการ (2.9)

$$\eta_{rel} = \frac{\eta}{\eta_0} \quad (2.9)$$

เมื่อแทนค่าจะได้ว่า

$$\eta_{rel} = \frac{At\rho}{At_0\rho_0} = \frac{t\rho}{t_0\rho_0}$$

ในกรณีที่สารละลายพอลิเมอร์ที่วัดเจือจางมากๆ (ค่าความเข้มข้นน้อยกว่าร้อยละ 2 โดยมวลต่อปริมาตร [29]) จะถือว่าความหนาแน่นของสารละลายพอลิเมอร์เท่ากับความหนาแน่นของตัวทำละลายบริสุทธิ์ ดังนั้นตัดพจน์ของพื้นที่ Viscometer และความหนาแน่นจะได้ว่า

$$\eta_{rel} = \frac{t}{t_0} \quad (2.10)$$

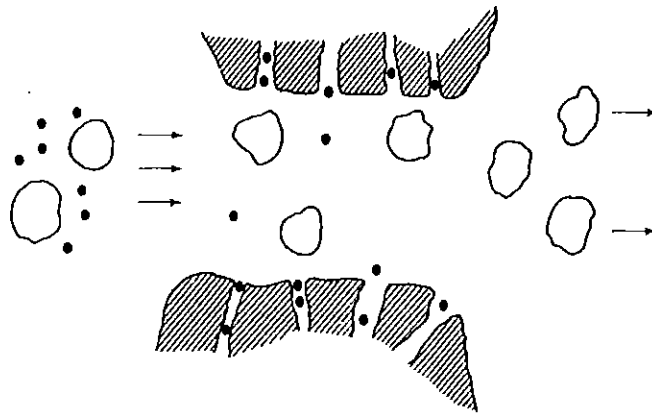
ดังนั้นในการทดลอง ถ้าสามารถวัดเวลาที่ของไหลเดินทางไหลผ่าน Capillary ในช่วงปริมาตรคงที่ได้ก็จะสามารถหาค่า η_{rel} ได้ และสามารถหาค่า specific viscosity (η_{sp}) ได้จากสมการที่ (2.11)

$$\eta_{sp} = \eta_r - 1 = \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0} \quad (2.11)$$

ในทางปฏิบัติจะหาค่า η_{rel} และ η_{sp} โดยการเตรียมสารละลายตัวอย่างพอลิเมอร์ที่ความเข้มข้นต่างๆ อย่างน้อย 4 ค่า (เพื่อนำไป plot กราฟ ต่อไป) โดยความเข้มข้นที่ใช้ควรจะไม่สูงมากนัก โดยทั่วไปอยู่ในช่วง 1 ถึง 20 กรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร อย่างไรก็ตามในกรณีที่สารตัวอย่างมี M_w ต่ำมาก อาจจะต้องใช้ความเข้มข้นสูงขึ้น 10 ถึง 40 กรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตรหรือในทางตรงกันข้ามถ้าสารตัวอย่างมี M_w สูงมากๆ อาจจะต้องใช้ความเข้มข้นเจือจางในช่วง 1 ถึง 5 กรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร

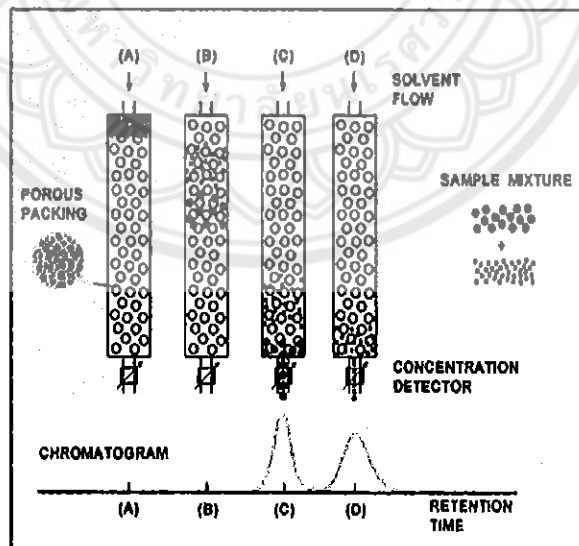
Gel Permeation Chromatography [16]

Gel permeation Chromatography (GPC) เป็นเทคนิคการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ที่อาศัยหลักการพื้นฐานที่ว่า พอลิเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่างกันเมื่ออยู่ในสารละลายจะเกิดการพองตัวของ random coil ที่ให้ขนาดต่างกัน โดยมีสมมุติฐานว่า hydrodynamic volume ที่เกิดจากการพองตัวของพอลิเมอร์จะแปรผันตามน้ำหนักโมเลกุลและเมื่อทำการฉีดสารละลายพอลิเมอร์ผ่านคอลัมน์ที่อยู่ในบรรจุสารที่มีลักษณะเป็นรูพรุน เช่น เม็ดอนุภาคโครอสติงค์พอลิสไตรีนที่มีรูพรุน จะพบว่าพอลิเมอร์ที่มีขนาดของ random coil หรือ hydrodynamic volume ต่างกันก็จะใช้เวลาในการเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์และไหลออกจากคอลัมน์ในเวลาที่ไม่เท่ากัน โดยพอลิเมอร์ที่มีขนาดใหญ่จะออกมาได้เร็วกว่า เนื่องจากไม่สามารถแทรกเข้าไปตามรูพรุนของสารที่บรรจุอยู่ในคอลัมน์ได้ ในขณะที่พอลิเมอร์ที่มีขนาดเล็กกว่าจะไหลผ่านออกจากคอลัมน์ได้ช้ากว่า เนื่องจากโมเลกุลมีขนาดเล็กพอที่จะแทรกเข้าไปในรูพรุนสารที่บรรจุอยู่ในคอลัมน์ได้จึงเสียเวลาในการเดินทางนานขึ้น (ดังแสดงในรูปที่ 2-9) ดังนั้น จะเห็นได้ว่า GPC เป็นเทคนิคที่แยกพอลิเมอร์ตามขนาด ดังนั้น บางครั้งจึงอาจจะเรียกชื่อเทคนิคนี้ว่า Size Exclusion Chromatography (SEC)



รูปที่ 2-9 การเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ที่มีรูพรุนของโมเลกุลพอลิเมอร์ที่มีขนาดต่างๆ [16]

สารละลายพอลิเมอร์ที่ไหลออกจากคอลัมน์ในช่วงเวลาต่างๆ กัน จึงมีน้ำหนักโมเลกุลไม่เท่ากัน ซึ่งเมื่อทำการวัดปริมาณของสารละลายพอลิเมอร์ที่ไหลออกในช่วงเวลาต่างๆ กันโดยใช้ detector ชนิดต่างๆ เช่น UV detector หรือ Reflective Index detector (RI) ก็จะสามารถเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของสารกับเวลาที่ไหลออกจากคอลัมน์หรือเรียกว่า “retention time” ซึ่งกราฟดังกล่าวจะเรียกว่า GPC chromatogram และมีลักษณะดังรูปที่ 2-10



รูปที่ 2-10 ตัวอย่างของ GPC โครมาโตแกรมที่เกิดจากการไหลผ่านคอลัมน์ของพอลิเมอร์ที่มีขนาดต่างๆ ภายใต้อัตราการไหล โดยมีแกนนอน (x-axis) เป็น retention time (t_{Rt}) [16]

นอกจากนั้นในบางครั้งค่า retention time ใน GPC chromatogram อาจถูกนำเสนอแทนที่ด้วยค่า retention volume ซึ่งค่าทั้งสองสามารถเทียบกลับไปมาได้โดยอาศัยสมการ (2.12)

$$T_{Rt} = \frac{V_{Rt}}{F} \quad (2.12)$$

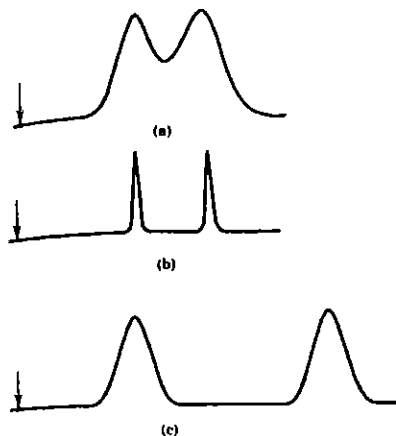
เมื่อ T_{Rt} = Retention Time

V_{Rt} = Retention Volume

F = อัตราการไหลของสารละลายที่ไหลผ่านคอลัมน์ (มิลลิลิตร/นาที)

โดยทั่วไปแล้วอัตราการไหลที่ใช้จะอยู่ที่ประมาณ 1 มิลลิลิตรต่อนาที นอกจากนั้นจะสังเกตเห็นได้ว่า GPC chromatogram ที่ได้อาจจะไม่ได้มีลักษณะเป็นพีคเดี่ยวๆ ซึ่งขึ้นอยู่กับว่าสารตัวอย่างพอลิเมอร์ที่ทำการวิเคราะห์ นั้นมีความกว้างของการกระจายตัวน้ำหนักโมเลกุลหรือมีค่า polydispersity Index มากแค่ไหน

นอกจากนั้นลักษณะของโครมาโตแกรมที่ได้ยังจะขึ้นอยู่กับสมบัติของคอลัมน์ด้วยว่ามีความสามารถในการแยกแยะ (resolution) สารละลายพอลิเมอร์ดีแค่ไหน โดยถ้าคอลัมน์มีระยะทางยาวมากขึ้นและรูพรุนในคอลัมน์มีขนาดที่หลากหลายแตกต่างกันมากขึ้น resolution ก็จะดีขึ้น ในทางตรงกันข้ามถ้าคอลัมน์มี resolution ไม่ดีอาจเห็นพีค 2 พีคผสมเข้าหากันกลายเป็นพีคกว้าง 1 พีคก็ได้ (รูปที่ 2-11) นอกจากนั้นวัสดุที่บรรจุในคอลัมน์เองก็จะมีขนาดหลากหลาย ซึ่งถ้าหากใช้ porous bead ขนาดที่มีเล็กก็จะบรรจุอนุภาคสารดังกล่าวได้เยอะ (high packing density) และทำให้ separation efficiency สูง แต่ในขณะเดียวกันถ้าใช้ bead ที่มีขนาดอนุภาคเล็กก็จะทำให้เกิดความดันย้อนกลับในคอลัมน์สูงขึ้นด้วย

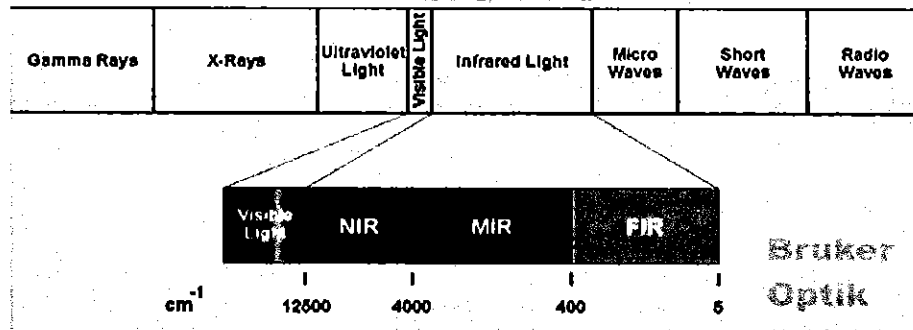


รูปที่ 2-11 ลักษณะ GPC โครมาโตแกรมในแบบต่างๆ (a) resolution ต่ำ (b) resolution ในแง่ของ separation efficiency สูง (c) resolution ในแง่ของ selectivity สูง [16]

2.4 การวิเคราะห์พอลิเมอร์ด้วยเทคนิค FT-IR

สเปกโตรสโคปี (spectroscopy) หมายถึงเทคนิคที่เกี่ยวข้องกับแสงหรือคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีลักษณะเป็นแถบพลังงาน (spectrum) โดยมีความยาวคลื่นตั้งแต่ในช่วงของคลื่นวิทยุ คลื่นไมโครเวฟ คลื่นอินฟราเรด คลื่นในช่วงที่ตามองเห็น (visible) ไปจนถึงคลื่นอัลตราไวโอเล็ต สำหรับคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าในช่วงอินฟราเรด จะมีเลขคลื่นในช่วง 650 ถึง 4,000 ต่อเซนติเมตร หรือมีความยาวคลื่นในช่วง 15.4 ถึง 2.5 เมตร โดยทั่วไปรังสีอินฟราเรดมีความยาวคลื่นอยู่ระหว่าง 0.78 มิลลิเมตร ถึง 1,000 มิลลิเมตร หรือมี Wave Number ที่ 12,500 ต่อเซนติเมตร ถึง 5 ต่อเซนติเมตร จะจัดช่วงสเปกตรัมของรังสีอินฟราเรดออกเป็น 3 ช่วงซึ่งเมื่อนำเอาแต่ละช่วงมาวิเคราะห์ทาง Spectroscopy จะให้ผลการวิเคราะห์ที่ได้ต่างกันคือ

1. Near Infrared Region Wavenumber (NIR) 12,500 ถึง 4,000 ต่อเซนติเมตร เป็นช่วงที่จะให้สเปกตรัมที่ได้จากโอเวอร์โทน (Overtone Band)
2. Middle Infrared Region Wavenumber (MIR) 4,000 ถึง 400 ต่อเซนติเมตร เป็นช่วงที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์เนื่องจากใช้ประโยชน์ได้มากในการวิเคราะห์
3. Far Infrared Region Wavenumber (FIR) 400 ถึง 5 ต่อเซนติเมตร สเปกตรัมที่ได้จะเป็นการสั่นทั้งแกนของโครงสร้างโมเลกุลหรือเรียกว่า ช่วงลายพิมพ์นิ้วมือของสาร (Fingerprint Region) ซึ่งมีประโยชน์ในการเปรียบเทียบสาร เนื่องจากลายพิมพ์นิ้วมือของสารเดียวกันจะให้สเปกตรัมที่เหมือนกัน



รูปที่ 2-12 ความยาวคลื่นของรังสีอินฟราเรด [19]

เครื่อง Infrared Spectrometer จะใช้หลักการกระจายแสงของสเปกตรัมการแผ่รังสีแม่เหล็กไฟฟ้า ในช่วงของอินฟราเรดแล้วทำการวัดค่าความเข้มแสงเปรียบเทียบกับความยาวคลื่นหรือเลขคลื่น (Frequency-Domain Spectrum) ซึ่งก็จะได้ออกมาเป็นสเปกตรัม แต่สำหรับ FT-IR จะใช้การวัด ความเข้มเข้มแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ กันอย่างต่อเนื่องเปรียบเทียบกับเวลา (Time-Domain Spectrum) จากนั้นจะถูกเปลี่ยนให้เป็นสเปกตรัมของความเข้มของแสงต่อความยาวคลื่นหรือเลขคลื่นโดยการ Fourier Transform ด้วยคอมพิวเตอร์ก็จะได้ออกมาเป็น Fourier Transform Spectrum ด้วยวิธีนี้จะช่วยให้การวิเคราะห์มีความรวดเร็วเพิ่มขึ้นพร้อมทั้ง Resolution ก็ดีขึ้นด้วย [19]

2.4.1 ส่วนประกอบของเครื่อง FT-IR [19]

2.4.1.1 แหล่งกำเนิดเลเซอร์เพื่อใช้แสงเลเซอร์ ในการปรับระยะของ Mobile Mirror

2.4.1.2 Mobile Mirror เป็นกระจกเงาที่สามารถสะท้อน รังสีอินฟราเรดและสามารถที่จะเคลื่อนที่ได้

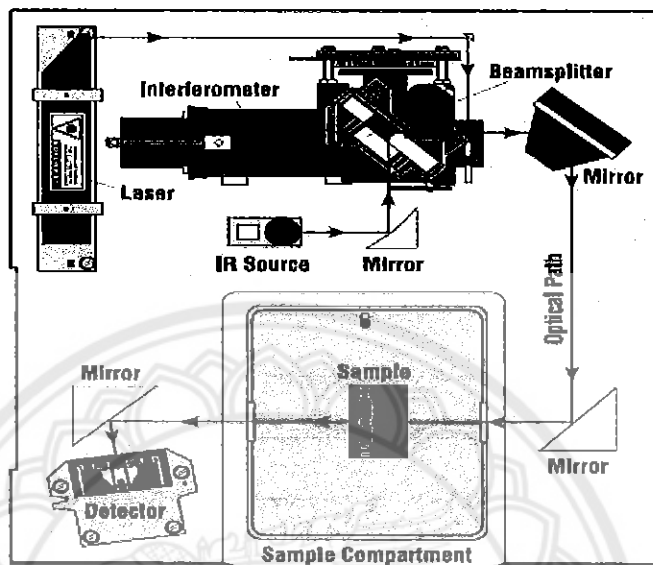
2.4.1.3 Fixed Mirror เป็นกระจกเงาที่สามารถสะท้อนรังสีอินฟราเรดเช่นเดียวกับ Mobile Mirror แต่ไม่สามารถที่จะเคลื่อนที่ได้

2.4.1.4 Beam Splitter เป็นส่วนที่จะทำการแยกอินฟราเรดที่ผ่านเข้ามาให้เป็นสองส่วนคือสามารถให้แสงทะลุผ่านได้ 50 เปอร์เซ็นต์ และจะสะท้อนกลับ 50 เปอร์เซ็นต์

2.4.1.5 กระจกเงา ที่สามารถสะท้อนรังสีอินฟราเรดใช้ในการบังคับทิศทางการเดินทางของรังสีอินฟราเรด ให้ไปตามทิศทางที่ต้องการ

2.4.1.6 Sample Compartment เป็นส่วนที่จะใช้ในการบรรจุ Sample เข้าไป
เพื่อการวิเคราะห์

2.4.1.7 Detector ใช้วัดความเข้มแสงที่เหลือจากการดูดกลืนของตัวอย่าง



รูปที่ 2-13 ส่วนประกอบของเครื่อง FT-IR [19]

2.5 เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในปี ค.ศ.2005 Drimalová E. และคณะ [8] ศึกษาทดลองเตรียมกรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนักโมเลกุลต่ำ โดยวิธีการย่อยสลายด้วยเทคนิคการฉายรังสีอัลตราโซนิก การฉายรังสีไมโครเวฟและการให้ความร้อน โดยเตรียมตัวอย่างกรดไฮยาลูโรนิก 0.1 กรัม ในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาย่อยสลายน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกโดยวิธีการฉายรังสีอัลตราโซนิก การฉายรังสีไมโครเวฟ และการให้ความร้อน ที่ภาวะความเป็นกรด-ต่างเป็นกลาง จากการทดลองพบว่าการฉายด้วยรังสีอัลตราโซนิกทำให้น้ำหนักโมเลกุลลดลงอย่างถาวร การย่อยสลายน้ำหนักโมเลกุลจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงเริ่มต้น ทำให้น้ำหนักโมเลกุลลดลงจาก 1,700 กิโลดาลตัน เป็น 42 กิโลดาลตัน เมื่อใช้เวลาในการฉายรังสี 120 นาที หลังจากนั้นน้ำหนักโมเลกุลจะลดลงอย่างช้าๆ การฉายรังสีไมโครเวฟในการย่อยสลายน้ำหนักโมเลกุลสามารถเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็ว ซึ่งน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกที่ผ่านการฉายรังสีไมโครเวฟลดลงจาก 1,200 กิโลดาลตัน เป็น 21 กิโลดาลตัน เมื่อใช้เวลาในการฉายรังสี 120 นาที ในกรณีการย่อยสลายโดยการให้ความร้อนน้ำหนักโมเลกุลของกรด

ไฮยาลูโรนิกลดลงจาก 1,200 กิโลดาลตัน เป็น 12.7 กิโลดาลตัน เมื่อผ่านการให้ความร้อน 180 นาที นอกจากนี้ยังพบว่า การฉายรังสีไมโครเวฟและการให้ความร้อนปฏิกิริยาจะดำเนินการไปได้ดีที่สุดในสภาวะความเป็นเบสอ่อน จากการตรวจสอบโครงสร้างทางเคมีของตัวอย่างกรดไฮยาลูโรนิกที่ผ่านการย่อยสลายแล้ว พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างเล็กน้อย จากการศึกษาสามารถสรุปได้ว่าวิธีการฉายรังสีอัลตราโซนิกเป็นวิธีที่เหมาะสมที่สุดเนื่องจากไม่มีการเกิดขึ้นของอนุมูลอิสระ ไม่มีการเจือปนจากสารเคมี มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีน้อยที่สุดและสามารถดำเนินการในสภาวะที่อุณหภูมิต่ำ

ปี ค.ศ.2010 Gua Z. และคณะ [13] ได้ศึกษาการเตรียมกรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนักโมเลกุลต่ำ โดยกระบวนการย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิกด้วยเทคนิคไฟฟ้าเคมี โดยเตรียมกรดไฮยาลูโรนิก ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ในตัวทำละลายในกรดอะซิติกความเข้มข้น 0.2 โมลต่อลิตร และโซเดียมอะซิเตรดความเข้มข้น 0.3 โมลต่อลิตร ทำปฏิกิริยาในถังปฏิกรณ์โดยใช้ขั้วแอโนดเป็นไทเทเนียมไดออกไซด์หรือรูทีเนียมออกไซด์และขั้วแคโทดเป็นเหล็กกล้าไร้สนิม ในระหว่างการย่อยสลายด้วยไฟฟ้าเคมีสารละลายจะถูกปั่นกววนอย่างต่อเนื่อง ดำเนินการภายใต้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 ถึง 120 นาที ปรับความหนาแน่นของกระแส 50 ถึง 150 มิลลิแอมแปร์ พบว่าการย่อยสลายด้วยไฟฟ้าเคมีไม่ส่งผลกระทบต่อคุณสมบัติทางเคมีของกรดไฮยาลูโรนิก การวัดน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกด้วยเทคนิค GPC พบว่าค่าน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกลดลงจาก 1493 กิโลดาลตัน เป็น 69 กิโลดาลตัน หลังจากผ่านการย่อยสลายด้วยไฟฟ้าเคมี 120 นาที ซึ่งสอดคล้องกับความหนืดที่วัดด้วยเครื่อง Viscometer คือ ความหนืดลดลงอย่างชัดเจนเมื่อเวลาผ่านไป 0 ถึง 120 นาที จากการศึกษาสรุปได้ว่า กระบวนการไฟฟ้าเคมีสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในกระบวนการย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิกได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ปี ค.ศ.2010 Choi J. และคณะ [5] ศึกษาทดลองเตรียมกรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนักโมเลกุลต่ำ โดยวิธีการย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนักโมเลกุลสูงที่อยู่ในรูปแบบผงด้วยเทคนิคการฉายรังสี ประกอบด้วย การฉายลำแสงอิเล็กตรอน รังสีแกมมา รังสีไมโครเวฟ และการย่อยสลายด้วยความร้อน โดยแต่ละกระบวนการใช้สภาวะและเงื่อนไขที่แตกต่างกัน เช่น ปริมาณการฉายรังสี เวลาในการย่อยสลายและอุณหภูมิเริ่มต้นในการย่อยสลาย หลังจากการทดลองพบว่า การย่อยสลายด้วยรังสีทุกชนิดส่งผลให้น้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกลดลงจาก 1,042 กิโลดาลตัน เป็น 200 ถึง



230 กิโลดาลตัน นอกจากนี้ยังพบว่าโครงสร้างของกรดไฮยาลูโรนิกไม่มีการเปลี่ยนแปลง มีเพียงการเปลี่ยนแปลงของสีของกรดไฮยาลูโรนิก ซึ่งอาจจะเป็นข้อจำกัดในการประยุกต์ใช้งานในชั้นผิวชั้นที่สามของผิวหนัง จากการศึกษาการวัดค่าการต้านอนุมูลอิสระพบว่ากรดไฮยาลูโรนิกที่ผ่านการย่อยสลายด้วยการฉายรังสีและการย่อยสลายด้วยความร้อนมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน โดยพบว่ากรดย่อยสลายด้วยการฉายรังสีไมโครเวฟมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกรดย่อยสลายโดยวิธีอื่น จากการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าการย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิกด้วยการฉายรังสีและการย่อยสลายด้วยความร้อนสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการเตรียมกรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนักโมเลกุลต่ำได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ปี ค.ศ.2011 Maharjan A. และคณะ [9] ได้ศึกษาผลกระทบของกรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนักโมเลกุลสูงกับกรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนักโมเลกุลต่ำที่มีต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ ซึ่งกรดไฮยาลูโรนิกมีคุณสมบัติเป็นสารเคลือบเซลล์ นิยมนำมาใช้อย่างแพร่หลายในทางการแพทย์และเวชสำอาง โดยเตรียมกรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนักโมเลกุลสูงและกรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนักโมเลกุลต่ำที่สังเคราะห์จากเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดรสต์ ปลูกถ่ายในเซลล์ผิวหนังมนุษย์ พบว่ากรดไฮยาลูโรนิกทั้งสองชนิดให้ผลกระทบที่ต่างกันบนเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่มีหน้าที่ผลิตคอลลาเจนและอีลาสติน โดยศึกษาผลกระทบบนโมเลกุล CD44 ซึ่งเป็นโมเลกุลที่ทำหน้าที่ช่วยเหลือกระบวนการของการเกิดเซลล์มะเร็ง และมีความสามารถในการจับกับกรดไฮยาลูโรนิก พบว่ากรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนักโมเลกุลสูงไม่มีผลต่อโมเลกุล CD44 ในขณะที่กรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนักโมเลกุลต่ำมีความสามารถในการจับกับโมเลกุล CD44 ทำให้ลดระดับโมเลกุล CD44 ส่งผลให้เซลล์ไฟโบรบลาสต์ มีลักษณะที่ต่างกันไป จึงชี้ให้เห็นได้ว่ากรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนักโมเลกุลต่ำสามารถควบคุมการสร้างเซลล์ไฟโบรบลาสต์ให้มีลักษณะแตกต่างกันได้มากกว่ากรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนักโมเลกุลสูงและยังสามารถประยุกต์ใช้ในด้านการแพทย์เพื่อสร้างเซลล์ผิวหนังให้มีลักษณะที่ต่างกันตามการรักษาได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ปี ค.ศ.2011 Ke C. และคณะ [12] ได้ศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของกรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนักโมเลกุลต่ำที่มีน้ำหนักโมเลกุล 1.45×10^5 และ 4.52×10^4 ดาลตัน และกรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนักโมเลกุลสูงที่มีน้ำหนักโมเลกุล 1.05×10^6 ดาลตัน โดยนำกรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน 3 กลุ่ม 1 มิลลิลิตร ละลายในน้ำ 2 มิลลิลิตร และสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 400 ไมโครโมลต่อลิตร 0.2 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการต้านอนุมูลอิสระโดยใช้เครื่อง

UV-Visible Spectrophotometer พบว่ากรดไฮยาลูโรนิกที่มีน้ำหนักโมเลกุล 1.45×10^5 ดาลตัน มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่ากรดไฮยาลูโรนิกที่มีน้ำหนักโมเลกุล 4.52×10^4 และ 1.05×10^6 ดาลตัน ตามลำดับ จากนั้นนำสารละลายกรดไฮยาลูโรนิกทั้ง 3 กลุ่ม มาทดสอบการต้านอนุมูลอิสระกับหนู พบว่ากรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนักโมเลกุลต่ำทั้ง 2 กลุ่มสามารถสร้างภูมิคุ้มกันและยังสามารถสร้างแอนไซม์ในการกำจัดอนุมูลอิสระให้กับหนูได้เป็นอย่างดี จากการทดลองนี้สรุปได้ว่ากรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนักโมเลกุลต่ำสามารถต้านอนุมูลอิสระในสิ่งมีชีวิตได้เป็นอย่างดีและในปัจจุบันการใช้กรดไฮยาลูโรนิกในการต้านอนุมูลอิสระสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในด้านทางการแพทย์และเวชสำอางได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ปี ค.ศ. 2012 Wu Yue. [6] ศึกษาทดลองเตรียมกรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนักโมเลกุลต่ำ โดยวิธีการย่อยสลายด้วยโอโซน โดยเตรียมสารละลายกรดไฮยาลูโรนิกเข้มข้นร้อยละ 1 โดยมวลต่อปริมาตร ในตัวทำละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.15 โมลาร์ หลังจากนั้นจะประยุกต์ใช้ก๊าซโอโซนที่ผลิตได้ในสภาวะพองอากาศเข้าไปทำปฏิกิริยากับกรดไฮยาลูโรนิก โดยมีอัตราการใช้ออกซิเจน 46 ± 5 มิลลิกรัมต่อนาที ดำเนินการที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และมีการกวนอย่างต่อเนื่องที่ความเร็วรอบ 1,100 รอบต่อนาที จากการทดลองพบว่ากรดไฮยาลูโรนิกหลังผ่านการย่อยสลายเป็นเวลา 120 นาที น้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกลดลงจาก 1,535 กิโลดาลตัน ถึง 87 กิโลดาลตัน อัตราการลดลงของน้ำหนักโมเลกุล 94.33 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่ากรดไฮยาลูโรนิกที่ผ่านการย่อยสลายไม่มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมี ซึ่งชี้ให้เห็นว่าการย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิกด้วยโอโซนไม่ส่งผลต่อโครงสร้างของมอนอเมอร์แต่ส่งผลให้ความยาวสายโซ่ของกรดไฮยาลูโรนิกลดลง ซึ่งจากการทดลองนี้สามารถสรุปได้ว่าโอโซนสามารถนำมาใช้ในการเตรียมกรดไฮยาลูโรนิกได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ปี ค.ศ. 2015 Chen S. และคณะ [3] ศึกษาการเตรียมกรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนักโมเลกุลต่ำโดยกระบวนการย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิกด้วยเทคนิคการฉายรังสีไมโครเวฟ การใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และการใช้กรดแอสคอร์บิก โดยสังเคราะห์กรดไฮยาลูโรนิกจากดวงตาของปลาชนิด 1 กรัม ละลายในโซเดียมคลอไรด์ 100 มิลลิลิตร ผ่านกระบวนการย่อยสลายโดยการฉายรังสีไมโครเวฟ การใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ร่วมกับการใช้กรดแอสคอร์บิกและการฉายรังสีไมโครเวฟร่วมกับการใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และกรดแอสคอร์บิก เป็นเวลา 0 ถึง 20 นาที รักษาค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 4

ดำเนินการภายใต้อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส หลังจากย่อยสลายด้วยเทคนิคต่างๆ พบว่าการย่อยสลายโดยใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ร่วมกับกรดแอสคอร์บิก สามารถย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิกได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกรดย่อยสลายด้วยวิธีการอื่น ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกน้อยกว่า 5 กิโลดาลตัน มีอัตราการลดลงของน้ำหนักโมเลกุล 77.43 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่าโครงสร้างทางเคมีของกรดไฮยาลูโรนิกที่ผ่านการย่อยสลายในแต่ละวิธีมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเล็กน้อย กระบวนการย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิกโดยใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ร่วมกับกรดแอสคอร์บิกสามารถลดน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ในกระบวนการย่อยสลายอื่นยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้ดีเช่นกัน เนื่องจากว่าในแต่ละกระบวนการส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างกรดไฮยาลูโรนิกเล็กน้อย

ปี ค.ศ.2016 Agostino A. และคณะ [10] ได้ศึกษาผลกระทบของกรดไฮยาลูโรนิก ในการใช้งานทางด้านการแพทย์และเวชสำอาง โดยได้ศึกษาความแตกต่างของขนาดโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกที่ส่งผลต่อการออกฤทธิ์ทางชีวภาพบนแผลของมนุษย์ โดยเตรียมกรดไฮยาลูโรนิกรูปแบบผงน้ำหนักโมเลกุล 1,800 กิโลดาลตัน และ 1,400 กิโลดาลตัน ในเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 93 โดยปริมาตร โดยมีการปั่นกวนอย่างต่อเนื่อง ในระหว่างการปั่นกวนเติมกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้นร้อยละ 37 โดยปริมาตร จนได้ความเข้มข้นสุดท้ายของกรดไฮโดรคลอริก 4 โมลาร์ จากนั้นทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสเป็นเวลา 70 120 150 และ 180 นาที ตามลำดับ เพื่อให้ได้กรดไฮยาลูโรนิก น้ำหนักโมเลกุล 500 100 50 และ 15 กิโลดาลตัน ตามลำดับ จากนั้นนำกรดไฮยาลูโรนิก 50 กิโลดาลตัน มาทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสอีกครั้งเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้ได้กรดไฮยาลูโรนิก 6 กิโลดาลตัน จากนั้นศึกษาผลกระทบของกรดไฮยาลูโรนิกช่วงน้ำหนักโมเลกุล 6 ถึง 1,800 กิโลดาลตัน บนบาดแผลของมนุษย์ พบว่ากรดไฮยาลูโรนิกที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงและกรดไฮยาลูโรนิกที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำส่งผลให้การสมานของบาดแผลเร็วขึ้นเมื่อเทียบกับการรักษาบาดแผลโดยการสมานเซลล์ผิวหนังตามธรรมชาติ ในกรณีกรดไฮยาลูโรนิกที่มีน้ำหนักโมเลกุล 6 กิโลดาลตัน มีการตอบสนองต่อการอักเสบของผิวหนัง ซึ่งผลกระทบจากกรดไฮยาลูโรนิกที่มีน้ำหนักโมเลกุล 6 กิโลดาลตันสามารถยืนยันได้ด้วยงานวิจัยที่ผ่านมาว่ามีการตอบสนองต่อการอักเสบของผิวหนัง ซึ่งชี้ให้เห็นว่ากรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนักโมเลกุลที่ต่างกันสามารถนำไปใช้งานได้หลากหลาย อาทิ คุณภาพของยารักษาโรค เป็นต้น

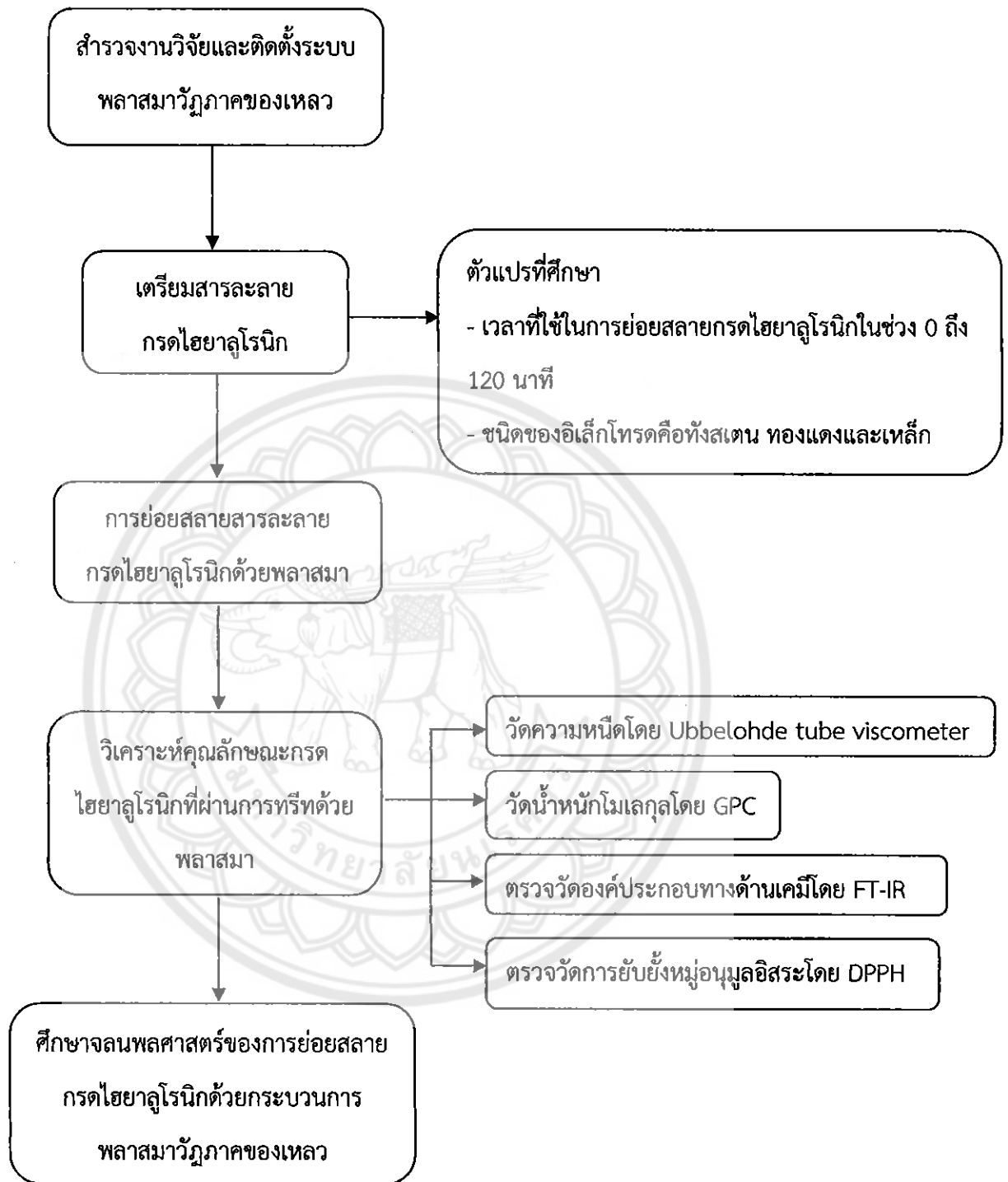
บทที่ 3

ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

- 3.1.1 เครื่องปั่นกวน (Magnetic stirrer)
- 3.1.2 เครื่องกำเนิดพลาสมาวิทยุภาคของเหลว (PEKURIS, Japan)
- 3.1.3 Reactor ขนาด 100 มิลลิลิตร
- 3.1.4 ขั้วอิเล็กโทรด (ทั้งสแตน, เหล็ก, ทองแดง)
- 3.1.5 เครื่องชั่งสาร
- 3.1.6 Ubbelohde tube viscometer
- 3.1.7 เครื่อง GPC
- 3.1.8 เครื่อง FT-IR
- 3.1.9 เครื่อง UV-Visible Spectroscopy (UV-vis)
- 3.1.10 กรดไฮยาลูโรนิกรูปแบบผง (Namsiang co. Ltd, ประเทศไทย)
- 3.1.11 DPPH
- 3.1.12 เอทานอล
- 3.1.13 น้ำกลั่น

3.2 วิธีการทดลอง



รูปที่ 3-1 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

3.3 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

3.3.1 การติดตั้งระบบพลาสมาวัฏภาคของเหลว

กระบวนการพลาสมาวัฏภาคของเหลวเกิดขึ้นภายในระบบเปิดภายในเครื่องปฏิกรณ์ แก้วที่มีขั้วอิเล็กโทรดติดตั้งอยู่ทั้งสองข้างของเครื่องปฏิกรณ์ โดยเกิดขึ้นระหว่างการติดตั้งขั้วอิเล็กโทรดชนิดต่างๆ ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 มิลลิเมตร ติดตั้งให้มีระยะห่างระหว่างขั้วอิเล็กโทรดทั้งสองขั้ว 0.2 มิลลิเมตร เชื่อมต่อขั้วอิเล็กโทรดทั้งสองเข้ากับเครื่องพาวเวอร์ซัพพลาย ระบบไฟฟ้ากระแสตรงแบบพัลส์ โดยที่เครื่องปฏิกรณ์แก้วตั้งอยู่บนเครื่องปั่นกวาน

3.3.2 การย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิกด้วยพลาสมาวัฏภาคของเหลว

เตรียมสารละลายกรดไฮยาลูโรนิกความเข้มข้นร้อยละ 0.3 โดยมวลต่อปริมาตร โดยปั่นกวานจนกว่าสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำสารละลายกรดไฮยาลูโรนิกที่เตรียมได้ใส่ในถังปฏิกรณ์พลาสมาและทำการย่อยสลายโดยกระบวนการพลาสมาวัฏภาคของเหลวที่มีความต่างศักย์ 2 กิโลโวลต์ (Voltage) ความกว้างของพัลส์ (Pulse Width) 3×10^{-6} วินาที ความถี่ของเครื่องกำเนิดพลาสมา 15 กิโลเฮิรตซ์ โดยตัวแปรที่ทำการศึกษาคือชนิดของขั้วอิเล็กโทรด 3 ชนิด คือ ทั้งสแตนเลสและทองแดง ในแต่ละขั้วอิเล็กโทรดใช้เวลาในการทรีท 0 15 30 60 90 120 นาที ตามลำดับ

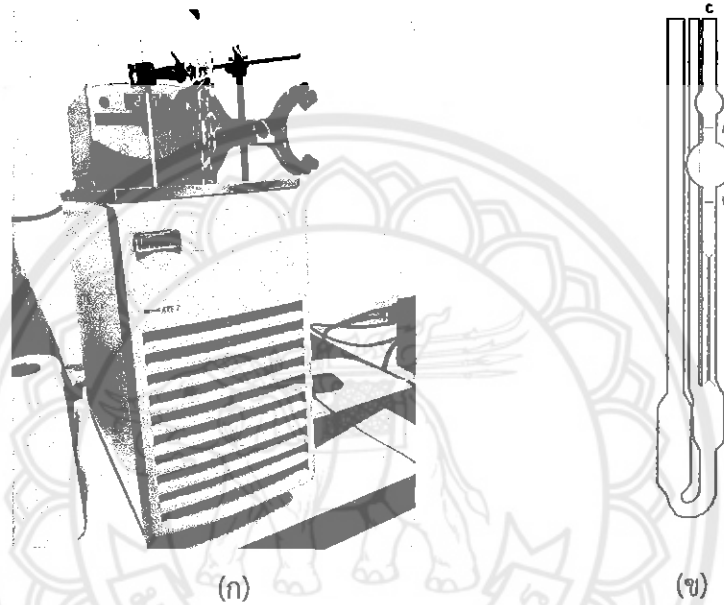
3.3.3 การวิเคราะห์คุณลักษณะของกรดไฮยาลูโรนิกหลังการย่อยสลายด้วยกระบวนการพลาสมาวัฏภาคของเหลว

ตรวจวัดความหนืดด้วย Ubbelohde tube viscometer

การวัดความหนืดของกรดไฮยาลูโรนิกทั้งก่อนและหลังจากการย่อยสลายด้วยพลาสมาวัฏภาคของเหลวในสภาวะต่างๆ สามารถตรวจวัดด้วยอุปกรณ์ Ubbelohde tube viscometer โดยนำสารละลายตัวอย่างกรดไฮยาลูโรนิกปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ลงใน Ubbelohde tube viscometer โดยรักษาอุณหภูมิด้วยอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส ดังแสดงในรูปที่ 3.2 (ก) จากนั้นใช้ลูกยางดูดสารละลายกรดไฮยาลูโรนิกที่จุด C ให้สารละลายกรดไฮยาลูโรนิกขึ้นมาถึงจุด A แล้วปล่อยสารละลายกรดไฮยาลูโรนิกให้ไหลลงมาถึงจุด B เริ่มจับเวลาตั้งแต่เริ่มปล่อยสารละลายกรดไฮยาลูโรนิกแล้วหยุดเวลาเมื่อสารละลายกรดไฮยาลูโรนิกถึงจุด B ดังแสดงในรูปที่ 3-2 (ข) ทำซ้ำ 3 รอบในแต่ละสภาวะต่างๆ นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาค่าความหนืดจากสมการ (2.10)

$$\eta_r = \frac{t_1}{t_0}$$

- เมื่อ η_r คือ ค่าความหนืดสัมพัทธ์ (relative viscosity)
 t_1 คือ เวลาในการไหลของตัวอย่างสารละลายกรดไฮยาลูโรนิก (นาที่)
 t_0 คือ เวลาในการไหลของตัวทำละลาย (นาที่)



รูปที่ 3-2 อุปกรณ์วัดความหนืด Ubbelohde tube viscometer

(ก) การวัดความหนืดด้วยอุปกรณ์ Ubbelohde tube viscometer

(ข) แบบจำลอง Ubbelohde tube viscometer

ตรวจวัดความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค DPPH radical scavenging activity

ละลาย DPPH 0.04 กรัม ในเอทานอล 500 มิลลิลิตร (ควรเก็บไว้ในที่ปลอดภัย) ผสม DPPH 1 มิลลิลิตร ตัวอย่างของสารละลายกรดไฮยาลูโรนิก 1 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร แล้วนำไปตรวจสอบค่าโดยใช้เครื่อง UV-Visible Spectroscopy (UV-vis) ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้ DPPH เป็นสารละลายมาตรฐาน จากนั้นบันทึกค่าแล้วนำข้อมูลมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระจากสมการ (3.2)

$$\text{เปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ} = \frac{A - B}{A} \times 100 \quad (3.2)$$

เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน

B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง

วัดน้ำหนักโมเลกุลโดยเทคนิค Gel Permeation Chromatography (GPC)

น้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกก่อนและหลังการย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิกด้วยกระบวนการพลาสมาวิทยุภาคของเหลวสามารถตรวจสอบด้วยเทคนิค GPC (Gel Permeation Chromatography) โดยการใช้สารละลายตัวอย่างมาตรฐานพอลูแลนที่มีน้ำหนักโมเลกุลช่วง 5,900 ถึง 70,800 ดาลตัน สร้างเป็นกราฟมาตรฐาน นำสารละลายกรดไฮยาลูโรนิกมาตรวจวัดโดยใช้คอลัมน์ชนิด Ultra-hydrogel linear 1 ความเข้มข้นของสารละลายกรดไฮยาลูโรนิก 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ถูกกรองผ่านเมมเบรน ขนาด 0.45 ไมโครเมตร อัตราการไหล 0.6 มิลลิลิตรต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แล้วนำไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน จากนั้นศึกษาจลนพลศาสตร์และอัตราการย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิกโดยใช้สมการ (3.3) [27]

$$\frac{1}{M_w(t)} = K(t) + \frac{1}{M_{w0}} \quad (3.3)$$

เมื่อ $M_w(t)$ คือ ค่าน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยที่เวลาใด ๆ

M_{w0} คือ ค่าน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของกรดไฮยาลูโรนิกตัวอย่าง

k คือ ค่าคงที่อัตราการย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิก (ต่อนาที)

t คือ เวลาในการเกิดปฏิกิริยา

ทำการเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการเกิดปฏิกิริยากับส่วนกลับของค่าน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย เพื่อหาค่าอันดับปฏิกิริยาและค่าคงที่อัตราการเกิดปฏิกิริยาที่เกิดจากการย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิก

ตรวจสอบคุณสมบัติทางเคมีด้วยเทคนิค *Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR)*

การตรวจสอบคุณสมบัติทางเคมีของกรดไฮยาลูโรนิกทั้งก่อนและหลังการย่อยสลาย โดยกระบวนการพลาสมาวิวัฒนาการของเหลวตรวจสอบโดยการนำสารละลายกรดไฮยาลูโรนิกที่ผ่านการย่อยสลายในสภาวะต่างๆ ทำการหยดสารละลายกรดไฮยาลูโรนิกตัวอย่าง 1 หยดบนเซลล์โพแทสเซียมโบรไมด์ นำไปตรวจสอบโครงสร้างทางเคมีด้วยเครื่องมือ *Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR)* โดยใช้ *Transmittance Mode* สแกนในช่วง 4,000 ถึง 400 ต่อเซนติเมตร ค่าความสามารถในการแยก (*Resolution*) 2 ต่อเซนติเมตร และจำนวนสแกน 128 ครั้ง



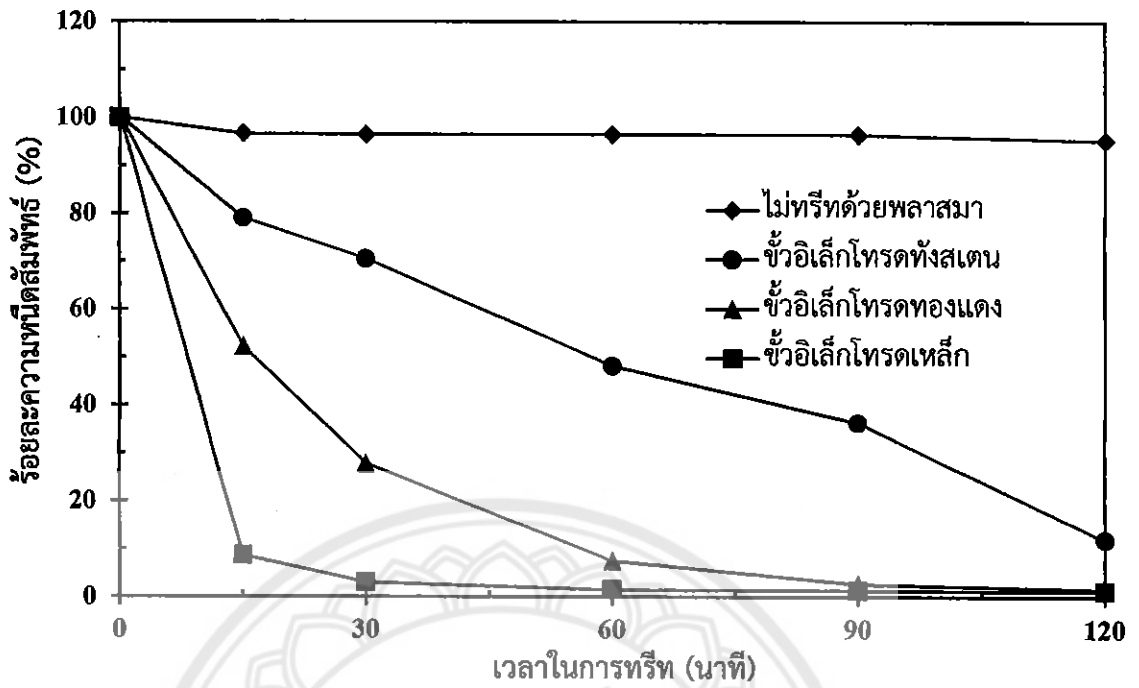
บทที่ 4

ผลและการวิเคราะห์ผลการทดลอง

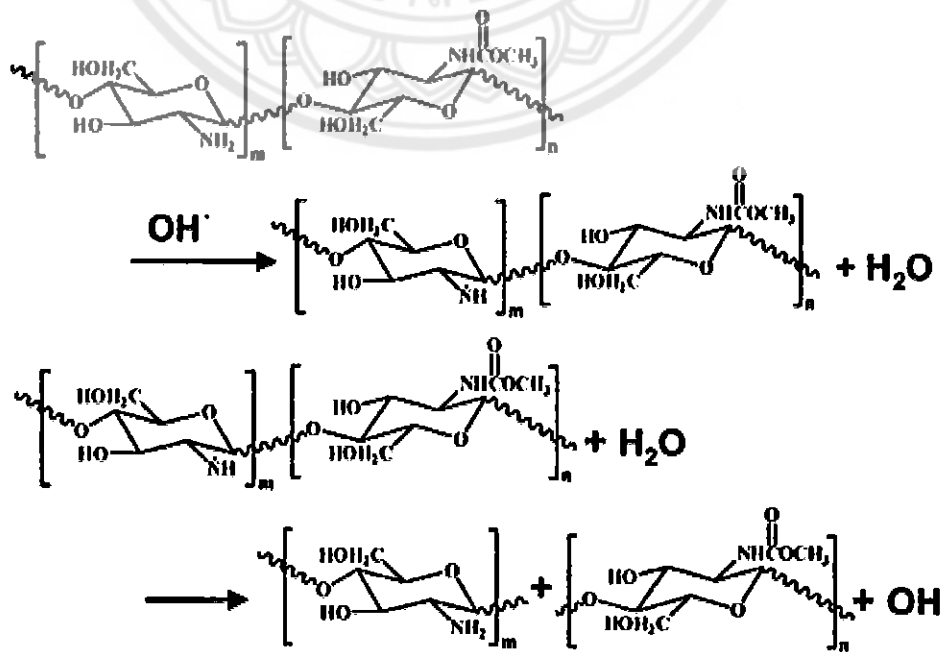
4.1 ผลของเวลาที่ใช้ในการทรีทและชนิดของข้ออิเล็กโทรดที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงความหนืดของสารละลายกรดไฮยาโลโรนิก

จากรูปที่ 4-1 แสดงค่าร้อยละความหนืดสัมพัทธ์ของกรดไฮยาโลโรนิกก่อนทรีทและหลังทรีทด้วยกระบวนการพลาสมาวิทยุภาคของเหลว พบว่าความหนืดของกรดไฮยาโลโรนิกที่ไม่ผ่านการทรีทด้วยพลาสมามีการเปลี่ยนแปลงความหนืดเพียงเล็กน้อย โดยที่เวลา 120 นาที มีค่าร้อยละความหนืดสัมพัทธ์เท่ากับ 95.3 ซึ่งชี้ให้เห็นว่าการละลายกรดไฮยาโลโรนิกในน้ำที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ไม่ทำให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส อย่างไรก็ตามเมื่อทรีทด้วยพลาสมาวิทยุภาคของเหลวโดยใช้ข้ออิเล็กโทรดทั้งสแตน พบว่าความหนืดของสารละลายกรดไฮยาโลโรนิกลดลงอย่างต่อเนื่องโดยที่เวลาในการทรีทด้วยพลาสมา 120 นาที จะมีค่าร้อยละความหนืดสัมพัทธ์ 11.9 ผลดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าพลาสมาวิทยุภาคของเหลวชักนำให้เกิดการย่อยสลายของกรดไฮยาโลโรนิก เนื่องจากระหว่างกระบวนการทรีทด้วยพลาสมาวิทยุภาคของเหลวจะผลิตอนุมูลอิสระในระบบโดยเฉพาะอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล ซึ่งผลที่ได้รับสอดคล้องกับงานวิจัยของ Prasertsung I. และคณะ (2013) [15] ที่ศึกษาการเตรียมโคโตซานน้ำหนักโมเลกุลต่ำด้วยกระบวนการพลาสมาวิทยุภาคของเหลว พบว่าหลังจากการทรีทด้วยพลาสมาวิทยุภาคของเหลวที่เวลาต่างๆ ความหนืดของโคโตซานลดลง โดยได้เสนอกลไกการย่อยสลายโคโตซานด้วยพลาสมาวิทยุภาคของเหลวดังแสดงในสมการ (4.1) และรูปที่ 4-2 ในการย่อยสลายโคโตซานด้วยกระบวนการพลาสมาวิทยุภาคของเหลวจะชักนำให้เกิดการแตกตัวของน้ำซึ่งเป็นตัวทำละลายในสารละลายโคโตซานและได้อนุมูลอิสระไฮดรอกซิลและอนุมูลอิสระไฮโดรเจน ซึ่งอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลจะทำปฏิกิริยาการย่อยสลายพันธะไกลโคซิดิกที่เป็นหมู่ที่เชื่อมระหว่างหน่วยกลูโคซามีนในโคโตซาน ทำให้สายโซ่ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิกขาดออกจากกันส่งผลให้สายโซ่สั้นลงและทำให้น้ำหนักโมเลกุลของโคโตซานลดลงตามลำดับ

เนื่องจากกรดไฮยาโลโรนิกและโคโตซานเป็นคาร์โบไฮเดรตพอลิเมอร์ที่มีโครงสร้างคล้ายคลึงกัน ดังนั้นปฏิกิริยาการย่อยสลายกรดไฮยาโลโรนิกด้วยพลาสมาวิทยุภาคของเหลวจึงเป็นปฏิกิริยาเดียวกันกับที่รายงานในกรณีของโคโตซาน



รูปที่ 4-1 ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความหนืดสัมพัทธ์ของกรดไฮยาลูโรนิกกับเวลาก่อนทรีตและหลังทรีตด้วยกระบวนการพลาสมาวิทยุภาคของเหลว โดยใช้ซีวี่เล็กโทรดทั้งสแตนทองแดง และเหล็ก ที่ความถี่ 15 กิโลเฮิร์ตซ์

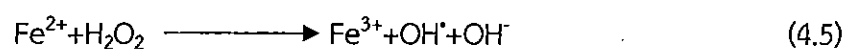
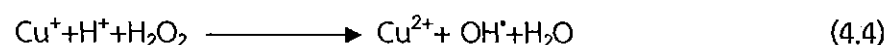


รูปที่ 4-2 แสดงกลไกการย่อยสลายโคไตซานด้วยกระบวนการพลาสมาวิทยุภาคของเหลว [21]

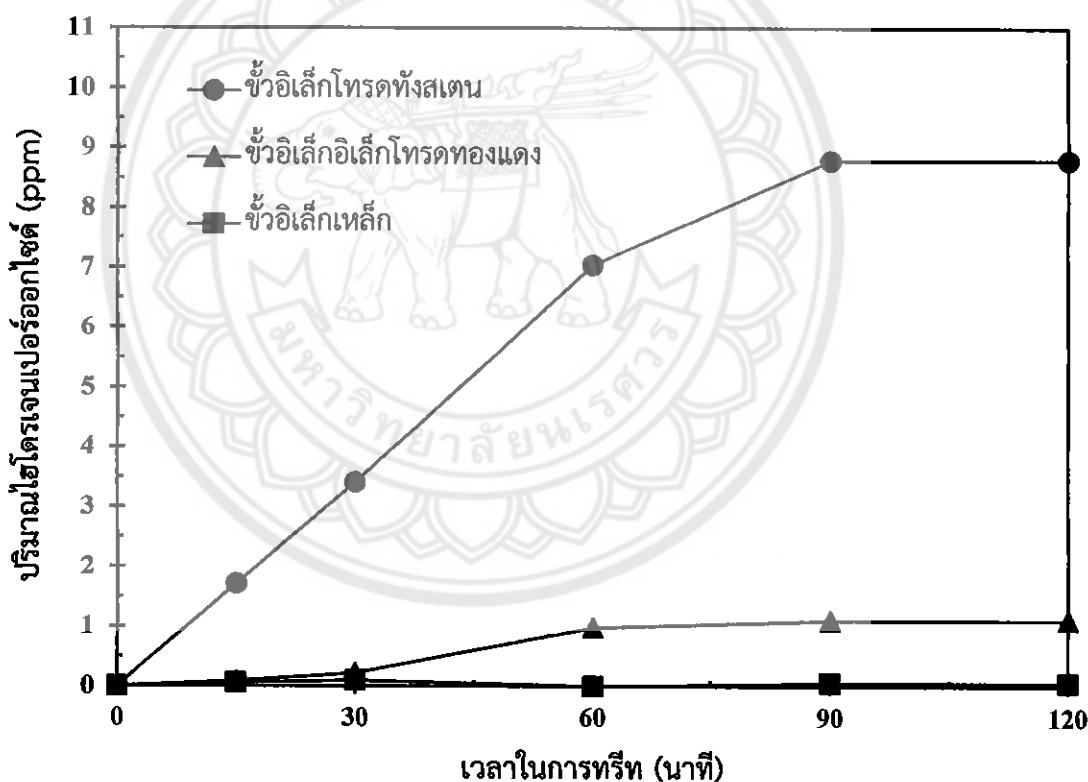
เมื่อพิจารณาผลการเปลี่ยนแปลงร้อยละความหนืดสัมพัทธ์ของสารละลายกรดไฮยาโลโรนิกที่ผ่านการทรีตด้วยพลาสมาวิศวกรรมของเหลวโดยใช้ข้ออิเล็กโทรดทองแดงและเหล็ก ดังแสดงในรูปที่ 4-1 พบว่าค่าร้อยละของความหนืดสัมพัทธ์ลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อเปรียบเทียบกับกรณีที่ทรีตด้วยทั้งสแตน โดยร้อยละความหนืดสัมพัทธ์ของกรดไฮยาโลโรนิกที่ผ่านการทรีตด้วยข้ออิเล็กโทรดทองแดงเวลาในการทรีต 60 นาที มีค่าร้อยละความหนืดสัมพัทธ์ลดลงอย่างรวดเร็วจาก 100 เป็น 7.52 และคงที่จนกระทั่งเวลาในการทรีต 120 นาที สำหรับการทรีตสารละลายกรดไฮยาโลโรนิกด้วยข้ออิเล็กโทรดเหล็กพบว่าที่เวลาการทรีต 15 นาที มีค่าร้อยละความหนืดสัมพัทธ์ลดลงอย่างรวดเร็วจาก 100 เป็น 8.63 และคงที่จนกระทั่งเวลาที่ใช้ในการทรีต 120 นาที ผลดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าการทรีตสารละลายกรดไฮยาโลโรนิกด้วยข้ออิเล็กโทรดทองแดงและเหล็กจะส่งเสริมให้เกิดการย่อยสลายกรดไฮยาโลโรนิกได้ดีกว่าเมื่อเทียบกับการทรีตด้วยข้ออิเล็กโทรดทั้งสแตน ทั้งนี้เนื่องจากการใช้ทองแดงและเหล็กเป็นข้ออิเล็กโทรดจะทำให้เกิดกระบวนการอิเล็กโทรลิซิสที่ปลายข้ออิเล็กโทรดจะชักนำให้เกิดอนุภาคหรือไอออนของทองแดงและเหล็ก โดยไอออนเหล่านี้สามารถเกิดเป็นคอปเปอร์และเฟอร์รัสไอออนได้ซึ่งแสดงดังสมการ (4.2) และ (4.3) ตามลำดับ



คอปเปอร์และเฟอร์รัสไอออนจะช่วยส่งเสริมให้เกิดปฏิกิริยาเฟนตอนซึ่งเป็นปฏิกิริยาการแตกตัวของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาการรวมตัวของหมู่ไอโซทรอกซิลในกระบวนการพลาสมาทำให้เกิดหมู่ไอโซทรอกซิลในปริมาณมากขึ้นแสดงดังสมการ (4.4) และ (4.5) [21]



ในการพิสูจน์กลไกการเกิดปฏิกิริยาเฟนทอนสามารถทำได้โดยการวัดปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการพลาสมา รูปที่ 4-3 แสดงปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์หลังผ่านกระบวนการพลาสมาวิภาคของเหลวโดยใช้ข้ออิเล็กโทรดเหล็ก ทองแดงและทังสเตน ซึ่งจะเห็นได้ว่าการทรีตด้วยพลาสมาโดยใช้ข้ออิเล็กโทรดเหล็กที่เวลาการทรีต 0 ถึง 120 นาที มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์น้อยที่สุด อิเล็กโทรดทองแดงและทังสเตนจะพบปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มากขึ้นตามลำดับ ซึ่งชี้ให้เห็นว่าการใช้อิเล็กโทรดเหล็กจะทำให้เกิดปฏิกิริยาการสลายตัวของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพื่อให้ได้หมู่ฟังก์ชันไฮดรอกซิลสูงสุดและหมู่ฟังก์ชันไฮดรอกซิลสามารถเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายกรดไฮยาโลโรนิก ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับผลการลดลงของร้อยละความหนืดสัมพัทธ์ดังแสดงในรูปที่ 4-1



รูปที่ 4-3 ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์หลังผ่านกระบวนการพลาสมาวิภาคของเหลวโดยใช้ข้ออิเล็กโทรดเหล็ก ทองแดง ทังสเตน

4.2 ผลของพลาสมาที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกและ จลนพลศาสตร์ของการย่อยสลาย

จากรูปที่ 4-4 แสดงค่าน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกที่ผ่านการทรีตด้วยพลาสมา
วิทยุภาคของเหลวโดยใช้ข้ออิเล็กโทรดทั้งสแตน พบว่าน้ำหนักโมเลกุลของสารละลายกรดไฮยาลูโรนิก
ลดลงอย่างต่อเนื่อง โดยที่เวลาในการทรีตด้วยพลาสมา 120 นาที พบว่ามีค่าน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ
190 กิโลดาลตัน เมื่อพิจารณาผลการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกที่ผ่านการทรีต
ด้วยพลาสมาวิทยุภาคของเหลวโดยใช้ทองแดงและเหล็ก ที่แสดงดังรูปที่ 4-4 โดยน้ำหนักโมเลกุลของ
กรดไฮยาลูโรนิกที่ผ่านการทรีตด้วยข้ออิเล็กโทรดทองแดง พบว่าเวลาในการทรีต 60 นาที ค่าน้ำหนัก
โมเลกุลลดลงอย่างรวดเร็วจาก 2,400 เป็น 280 กิโลดาลตัน และลดลงจนกระทั่งเวลาที่ใช้ในการทรีต
120 นาที สำหรับการทรีตสารละลายกรดไฮยาลูโรนิกด้วยข้ออิเล็กโทรดเหล็กพบว่าที่เวลาการทรีต
15 นาที มีค่าน้ำหนักโมเลกุลลดลงอย่างรวดเร็วจาก 2,400 เป็น 200 กิโลดาลตัน และลดลงจนกระทั่ง
เวลาที่ใช้ในการทรีต 120 นาที ผลดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าการทรีตสารละลายกรดไฮยาลูโรนิกด้วย
ข้ออิเล็กโทรดทั้งสแตน ทองแดงและเหล็กมีแนวโน้มสอดคล้องกับผลที่ได้จากการตรวจวัดความหนืด
และพบว่ากรดไฮยาลูโรนิกถูกย่อยสลายโดยไฮดรอกซิลซึ่งเป็นหมู่ฟังก์ชันที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการ
พลาสมาวิทยุภาคของเหลวดังที่กล่าวไปในหัวข้อก่อนหน้านี้ ดังนั้นจึงส่งผลให้กรดไฮยาลูโรนิกที่ผ่าน
กระบวนการทรีตด้วยพลาสมาวิทยุภาคของเหลวโดยใช้ข้ออิเล็กโทรดเหล็กมีน้ำหนักโมเลกุลน้อยที่สุดที่
เวลาต่างๆ ทั้งนี้ค่าน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกที่ผ่านการทรีตด้วยพลาสมา เวลา 0 ถึง 120
นาที โดยใช้ข้ออิเล็กโทรดชนิดทั้งสแตน ทองแดงและเหล็ก สามารถสรุปได้ดังแสดงในตารางที่ 4-1

เมื่อเปรียบเทียบผลของน้ำหนักโมเลกุลกับงานวิจัยที่ผ่านมาโดยใช้เทคนิคอื่นๆ ที่เวลาในการ
ย่อยสลายน้ำหนักโมเลกุลกรดไฮยาลูโรนิก 120 นาที พบว่าเทคนิคการฉายรังสีแกมมา รังสีไมโครเวฟ
และการทรีตด้วยความร้อนหลังผ่านกระบวนการน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของกรดไฮยาลูโรนิกอยู่ในช่วง
200 ถึง 230 กิโลดาลตัน โดยกระบวนการย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิกด้วยเทคนิคการฉายรังสี
ไมโครเวฟพบข้อจำกัดในด้านการเปลี่ยนแปลงสีของกรดไฮยาลูโรนิกหลังผ่านกระบวนการย่อยสลาย
และความร้อนที่เกิดขึ้นจากกระบวนการทรีตด้วยความร้อนส่งผลต่อกรดไฮยาลูโรนิกหลังผ่าน
กระบวนการย่อยสลาย [5] ส่วนกระบวนการทรีตด้วยไอโซนและกระบวนการทางไฟฟ้าเคมีพบว่า
น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของกรดไฮยาลูโรนิกมีค่าเท่ากับ 87 กิโลดาลตัน และ 69 กิโลดาลตัน
ตามลำดับ [6,13] และในการศึกษาปัจจุบัน การย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิกโดยใช้กระบวนการ
พลาสมาวิทยุภาคของเหลวโดยใช้ข้ออิเล็กโทรดเหล็กและทองแดง ที่ความถี่พลาสมา 15 กิโลเฮิร์ตซ์ มี

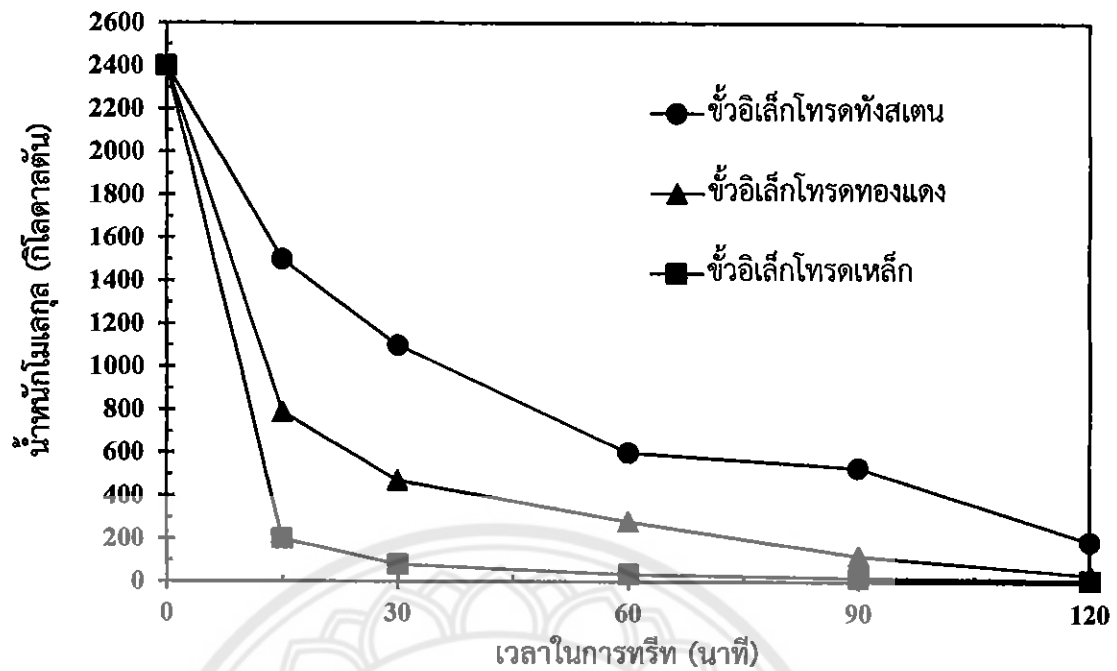
ค่าน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยเท่ากับ 9.5 ถึง 34 กิโลดาลตัน ซึ่งกระบวนการพลาสมาวิภาคของเหลวให้ผลของน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของกรดไฮยาลูโรนิกลดลงมากที่สุดเมื่อเทียบกับงานวิจัยที่ผ่านมา ดังแสดงในตารางที่ 4-2

ตารางที่ 4-1 น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย (M_w) ของกรดไฮยาลูโรนิกหลังผ่านการย่อยสลายน้ำหนักโมเลกุลด้วยกระบวนการพลาสมาวิภาคของเหลว โดยใช้ข้อวิเล็กโทรดชนิดต่างๆ ที่ความถี่ 15 กิโลเฮิร์ตซ์

เวลาในการย่อยสลาย (นาที)	น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย (กิโลดาลตัน)		
	ชนิดของข้อวิเล็กโทรด		
	ทั้งสแตน	ทองแดง	เหล็ก
0	2400	2400	2400
15	1500	790	200
30	1100	470	79
60	600	280	34
90	530	120	19
120	190	34	9.5

ตารางที่ 4-2 ผลของการย่อยสลายน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกด้วยเทคนิคต่างๆ จากงานวิจัยที่ผ่านมาที่เวลาการย่อยสลาย 120 นาที

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	เทคนิคที่ใช้	น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย (กิโลดาลตัน)
J. Choi, et al. (2010). [5]	การฉายรังสี (รังสีแกมมา, รังสีไมโครเวฟ) และ การทรีทด้วยความร้อน	200-230
Wu Yue. (2012) [6]	ทรีทด้วยโอโซน	87
Z. Gua, et al. (2010). [13]	กระบวนการไฟฟ้าเคมี	69
การศึกษาปัจจุบัน	กระบวนการพลาสมาวิภาคของเหลว (ข้อวิเล็กโทรดทองแดง และ เหล็ก ที่ความถี่ 15 กิโลเฮิร์ตซ์)	9.5-34



รูปที่ 4-4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกกับเวลาที่ผ่านกระบวนการพลาสมาวิภาคของเหลวโดยใช้ข้าวเปลือกโทรดเหล็ก ทองแดง และทั้งสแตน ที่ความถี่ 15 กิโลเฮิร์ตซ์

จากผลที่ได้จากการตรวจวัดน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกสามารถนำมาวิเคราะห์จลนพลศาสตร์ของการย่อยสลายดังที่ได้กล่าวไว้ในสมการ (3.3) โดยนำผลการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลมาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการทรีทพลาสมากับผลต่างของส่วนกลับน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของกรดไฮยาลูโรนิกที่ผ่านการทรีทด้วยกระบวนการพลาสมาวิภาคของเหลวที่เวลาใดๆ และส่วนกลับน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของกรดไฮยาลูโรนิกที่ไม่ผ่านการทรีทด้วยกระบวนการพลาสมาวิภาคของเหลว โดยเส้นกราฟความสัมพันธ์ที่ได้สามารถนำไปคำนวณหาค่าคงที่อัตราการย่อยสลายของกรดไฮยาลูโรนิก (k) จากความชันของเส้นตรง จากรูป 4-5 แสดงผลของการศึกษาจลนพลศาสตร์และอัตราการย่อยสลายของกรดไฮยาลูโรนิกหลังผ่านการทรีทด้วยกระบวนการพลาสมาวิภาคของเหลวโดยศึกษาในช่วงการทรีท 0 ถึง 60 นาที ที่ความถี่ 15 กิโลเฮิร์ตซ์ โดยเป็นช่วงที่มีการย่อยสลายน้ำหนักโมเลกุลอย่างรวดเร็ว ซึ่งเห็นได้ว่าเวลาในการทรีทพลาสมามากกว่า 60 นาที การย่อยสลายน้ำหนักโมเลกุลจะลดลงอย่างคงที่และเริ่มเข้าสู่จุดสมดุล (Equilibrium) จึงเลือกใช้ช่วงเวลาดังกล่าวในการศึกษาจลนพลศาสตร์ พบว่าค่าความเป็นเส้นตรงของกราฟ (R^2) เข้าใกล้ 1 (แสดงในตารางที่ 4-3) ซึ่งให้เห็นว่ากราฟมีค่าความเป็นเส้นตรงสูงซึ่งสัมพันธ์กับสมการที่ในการวิเคราะห์จลนพลศาสตร์ ดังนั้นปฏิกิริยาการย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิกเป็นปฏิกิริยาอันดับ 1

(First-order) อัตราการย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิกโดยใช้ขั้วทั้งสเดน ขั้วทองแดง และขั้วเหล็กมีค่าคงที่อัตราการย่อยสลาย 1.98×10^{-5} ต่อนาที 5.36×10^{-5} ต่อนาที และ 4.62×10^{-4} ต่อนาที ตามลำดับ ซึ่งให้เห็นว่ากรดไฮยาลูโรนิกที่ใช้ขั้วเหล็กในการทรีทมีค่าอัตราการย่อยสลายน้ำหนักโมเลกุลสูงสุด โดยสามารถเรียงลำดับของค่าคงที่อัตราการย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิกได้ดังนี้คือ ขั้วอิเล็กโทรดเหล็กมากกว่าขั้วอิเล็กโทรดทองแดงมากกว่าขั้วอิเล็กโทรดทั้งสเดน ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Tantiplapol T. (2015) [21] และคณะ ที่ศึกษาผลของสภาวะของพลาสมาวิภูภาคของเหลวที่มีต่ออัตราการย่อยสลายของโคโตซาน พบว่าการใช้ขั้วอิเล็กโทรดเหล็กมีค่าคงที่อัตราการย่อยสลายของโคโตซานมากกว่าขั้วอิเล็กโทรดทองแดงและขั้วอิเล็กโทรดทั้งสเดนตามลำดับ

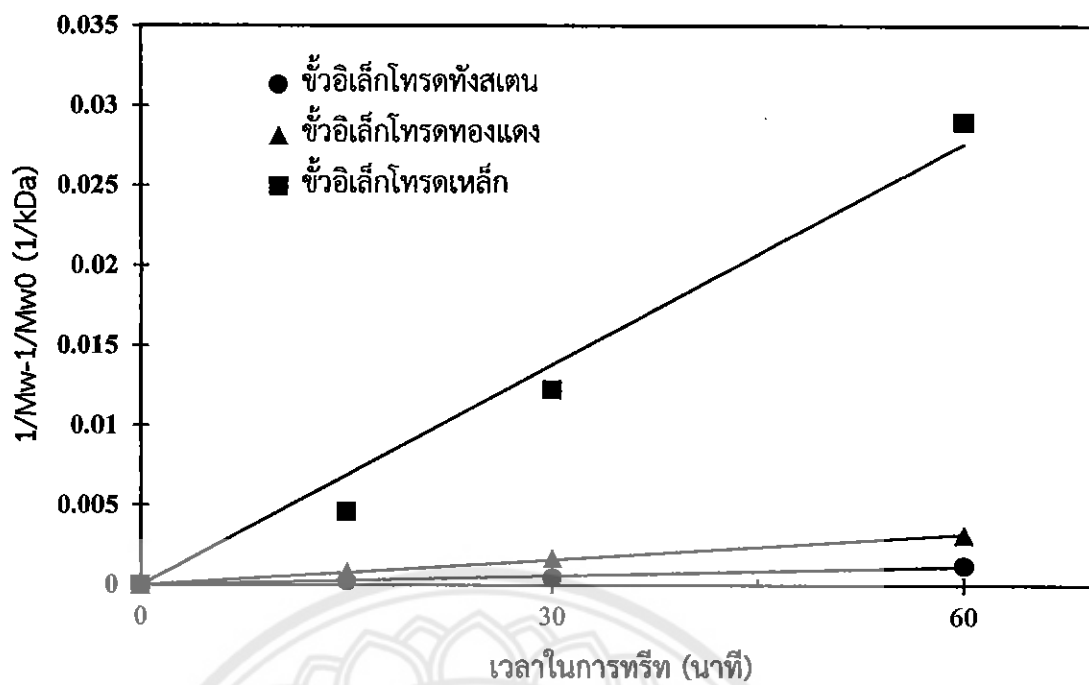
เมื่อทำการเปรียบเทียบผลของค่าคงที่อัตราการย่อยสลายน้ำหนักโมเลกุลกรดไฮยาลูโรนิกกับงานวิจัยที่ผ่านมาโดยการใช้เทคนิคการใช้สารละลายกรดมีค่าคงที่อัตราการย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิกเท่ากับ 10^{-5} ถึง 10^{-8} ต่อนาที [27] ส่วนการใช้กระบวนการพลาสมาวิภูภาคของเหลวโดยใช้ขั้วอิเล็กโทรดเหล็กที่ความถี่ 15 กิโลเฮิร์ตซ์ มีค่าคงที่อัตราการย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิกเท่ากับ 4.62×10^{-4} ต่อนาที ซึ่งให้ค่าคงที่อัตราการย่อยสลายสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยที่ผ่านมา ดังแสดงในตารางที่ 4-4

ตารางที่ 4-3 ค่าคงที่อัตราการย่อยสลายน้ำหนักโมเลกุลกรดไฮยาลูโรนิกและค่าความเป็นเส้นตรงของกราฟ

ชนิดของขั้วอิเล็กโทรด	ค่าคงที่อัตราการย่อยสลายของกรดไฮยาลูโรนิก (min^{-1})	ค่า R^2 จากกราฟ (รูป 4-5)
ทั้งสเดน	1.98×10^{-5}	0.9813
ทองแดง	5.36×10^{-5}	0.9970
เหล็ก	4.62×10^{-4}	0.9811

ตารางที่ 4-4 ผลของค่าคงที่อัตราการย่อยสลายน้ำหนักโมเลกุลกรดไฮยาลูโรนิกจากงานวิจัยที่ผ่านมา

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	เทคนิคที่ใช้	ค่าคงที่อัตราการย่อยสลายของกรดไฮยาลูโรนิก (min^{-1})
K. Tømmeraas and C. Melander (2008) [27]	การใช้สารละลายกรด	10^{-5} - 10^{-8}



รูปที่ 4-5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการทรีทพลาสมากับผลต่างส่วนกลับน้ำหนักโมเลกุลก่อนทรีทและหลังทรีทด้วยกระบวนการพลาสมาวิทยุภาคของเหลวโดยใช้ข้าวทั้งสเดน เหล็ก ทองแดง ที่ความถี่ 15 กิโลเฮิร์ตซ์

ในการย่อยสลายของกรดไฮยาลูโรนิกด้วยกระบวนการพลาสมาวิทยุภาคของเหลวโดยใช้ข้าวโอเล็กโทรดคือ ทั้งสเดน ทองแดงและเหล็ก พบว่าการใช้ข้าวโอเล็กโทรดเหล็กในการทรีทส่งผลให้เกิดการย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิกมากที่สุด เนื่องจากข้าวโอเล็กโทรดเหล็กส่งเสริมการเกิดปฏิกิริยาเพนตอนดิงที่กล่าวมาข้างต้นและเกิดการสปัตเตอริง (Sputtering) ในระหว่างการทรีทด้วยกระบวนการพลาสมาวิทยุภาคของเหลว ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Prasertsung I. และคณะ (2017) [28] ที่ศึกษาการเปลี่ยนเซลล์ลูโลสเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยกระบวนการพลาสมาวิทยุภาคของเหลว พบว่าในระหว่างการทรีทเซลล์ลูโลสด้วยพลาสมาจะชักนำให้เกิดการสปัตเตอริงของข้าวโอเล็กโทรดเหล็ก ส่งผลให้เกิดอนุภาคนาโนของเหล็กซึ่งส่งเสริมอัตราการย่อยสลายเซลล์ลูโลสเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ โดยในกระบวนการย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิกด้วยกระบวนการพลาสมาวิทยุภาคของเหลวพบว่าการทรีทด้วยข้าวโอเล็กโทรดเหล็กเกิดการกัดกร่อนที่ปลายข้าวมากกว่าทองแดงและมากกว่าทั้งสเดน จึงส่งเสริมอัตราการย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิกได้ดีที่สุด อย่างไรก็ตามการใช้ข้าวโอเล็กโทรดเหล็กส่งผลให้เกิดการปนเปื้อนของกรดไฮยาลูโรนิกหลังผ่านการทรีทด้วยพลาสมาและเกิดเป็นสีน้ำตาลซึ่งเกิดจากการกัดกร่อนข้าวโอเล็กโทรดดังแสดงในรูปที่ 4-6 (ก) ดังนั้นการย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิกโดยใช้ข้าวโอเล็กโทรดเหล็กในการทรีทพลาสมาจึงไม่เหมาะสมกับการนำไปใช้งาน

เนื่องจากกรดไฮยาลูโรนิกนำไปใช้งานหลายๆ ด้าน อาทิ ด้านเวชสำอาง ด้านเภสัชกรรม ซึ่งในการใช้งานด้านต่างๆ เหล่านี้มีข้อจำกัดเรื่องการปนเปื้อนในสารละลายกรดไฮยาลูโรนิก ในขณะการย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิกด้วยซั้วอิเล็กโทรดทั้งสแตน จะมีการกัดกร่อนที่ปลายขั้วน้อยที่สุด สังเกตได้จากกรดไฮยาลูโรนิกที่ผ่านการทรีทพลาสมาด้วยซั้วอิเล็กโทรดทั้งสแตนจะมีสีเดียวกับกรดไฮยาลูโรนิกที่ไม่ผ่านการทรีทด้วยพลาสมาดังแสดงในรูปที่ 4-6 (ข) ดังนั้น การย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิกด้วยกระบวนการพลาสมาวิภูภาคของเหลวโดยใช้ซั้วอิเล็กโทรดทั้งสแตนจึงเหมาะสมในการนำไปประยุกต์ใช้งานมากกว่าการใช้ซั้วอิเล็กโทรดเหล็กและทองแดงในการทรีทพลาสมา

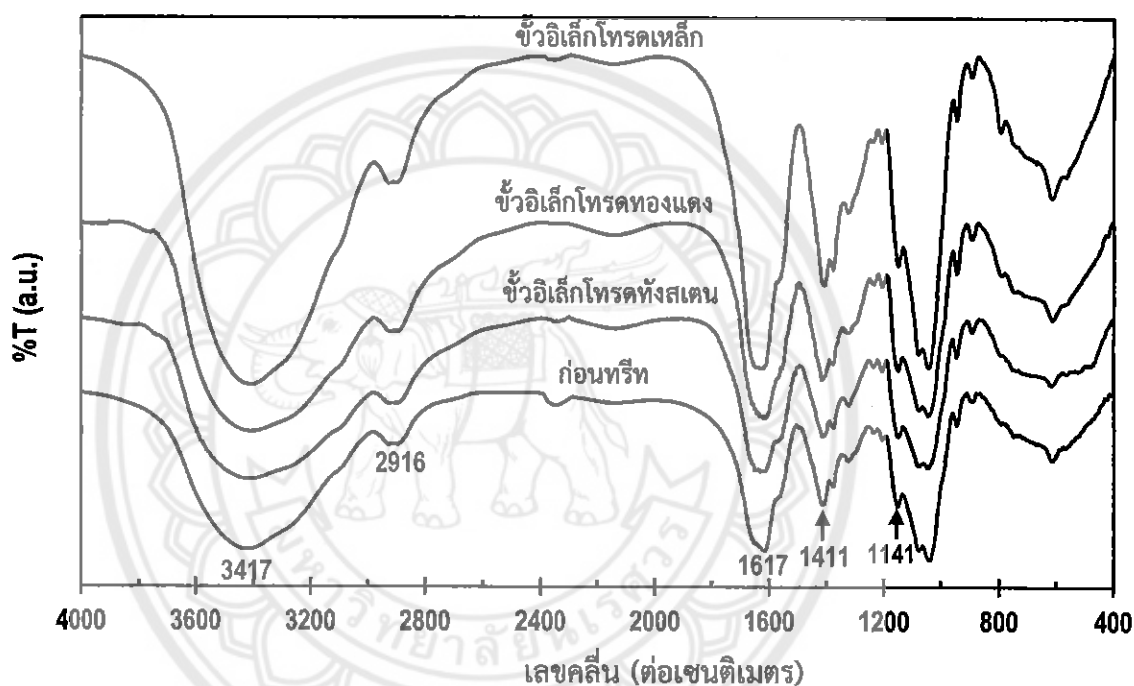


รูปที่ 4-6 สีของสารละลายกรดไฮยาลูโรนิกหลังผ่านกระบวนการทรีทด้วยพลาสมาวิภูภาคของเหลว (ก) ใช้ซั้วอิเล็กโทรดเหล็ก (ข) ใช้ซั้วอิเล็กโทรดทั้งสแตน

4.3 การตรวจวัดคุณสมบัติทางเคมีของกรดไฮยาลูโรนิกด้วยเทคนิค FT-IR หลังผ่านการย่อยสลายด้วยกระบวนการพลาสมาวิภูภาคของเหลว

จากรูปที่ 4-7 แสดงถึงลักษณะโครงสร้างทางเคมีของกรดไฮยาลูโรนิกก่อนการทรีท และกรดไฮยาลูโรนิกหลังผ่านการทรีทด้วยกระบวนการพลาสมาวิภูภาคของเหลว ด้วยขั้วทั้งสแตนทองแดงและเหล็ก ที่ความถี่ 15 กิโลเฮิรตซ์ จากผลที่ได้พบว่าโครงสร้างกรดไฮยาลูโรนิกที่ไม่ผ่านการทรีทด้วยพลาสมาแสดงพีกตำแหน่ง 3417 ต่อเซนติเมตร แสดงถึงพันธะแบบยึดที่เชื่อมโยงกับไฮโดรเจน (O—H และ N—H) พีกตำแหน่ง 2916 ต่อเซนติเมตร แสดงถึงพันธะแบบยึดที่เชื่อมระหว่างคาร์บอนกับไฮโดรเจน (C—H) พีกตำแหน่ง 1617 ต่อเซนติเมตร และพีกตำแหน่ง 1411 แสดงถึงพันธะคู่แบบยึด (ไม่สมมาตร) ที่เชื่อมระหว่างคาร์บอนกับออกซิเจน (C=O) และพันธะแบบ

ยิต (สมมาตร) ที่เชื่อมระหว่างคาร์บอนกับออกซิเจน (C—O) โดยจับกันเป็นหมู่คาร์บอกซิลิก และพิกตำแหน่ง 1141 ต่อเซนติเมตร แสดงถึงพันธะการเชื่อมโยงไกลโคซิดิก (-C-O-C-) ระหว่างมอนอเมอร์ของกรดไฮยาลูโรนิก หลังจากผ่านการทรีทด้วยพลาสมาวิทยุภาคของเหลวโดยใช้ข้ออิเล็กโทรดชนิดต่างๆ พบว่า พิกที่ได้มีลักษณะคล้ายคลึงกับพิกของกรดไฮยาลูโรนิกที่ไม่ผ่านการทรีทด้วยพลาสมา จากผลที่ได้สามารถสรุปได้ว่า การย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิกด้วยกระบวนการพลาสมาวิทยุภาคของเหลวโดยใช้ข้ออิเล็กโทรดชนิดทั้งสแตน ทองแดงและเหล็ก ส่งผลต่อการลดลงของน้ำหนักโมเลกุลเพียงอย่างเดียว แต่ไม่ส่งผลทำให้โครงสร้างทางเคมีของกรดไฮยาลูโรนิกเปลี่ยนแปลงไป



รูปที่ 4-7 FT-IR Absorption band ของกรดไฮยาลูโรนิกก่อนและหลังการทรีทด้วยกระบวนการพลาสมาวิทยุภาคของเหลวสร้างด้วยเทคนิค FT-IR

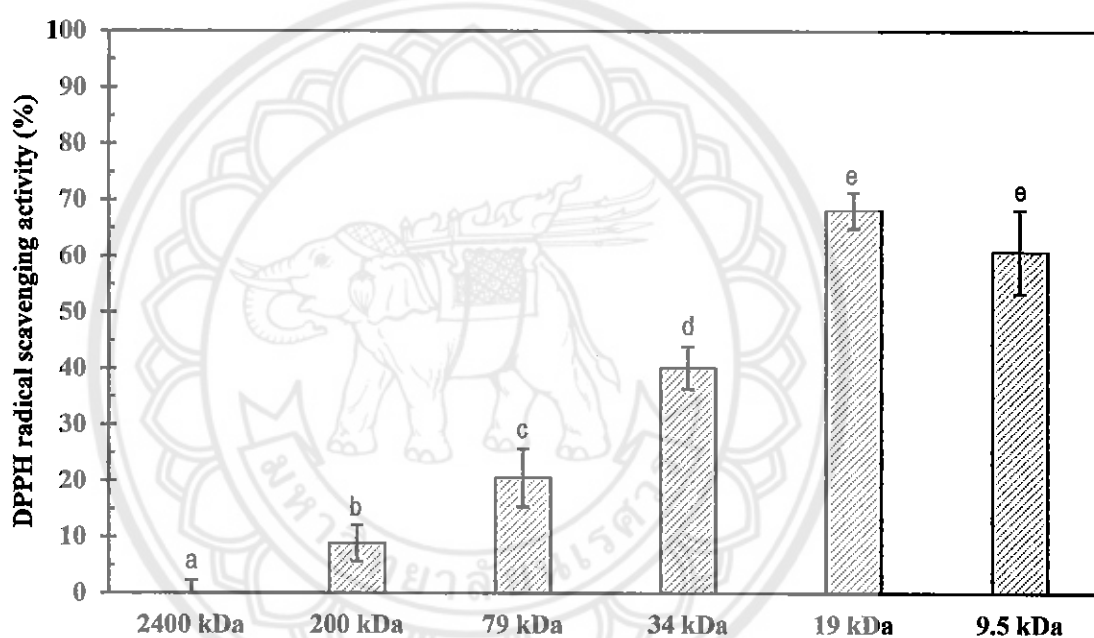
4.4 ผลของน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกที่มีต่อความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ

รูปที่ 4-8 แสดงความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของกรดไฮยาลูโรนิกก่อนและหลังผ่านการทรีทด้วยกระบวนการพลาสมาวิทยุภาคของเหลวโดยใช้ข้ออิเล็กโทรดเหล็ก ที่ความถี่ 15 กิโลเฮิร์ตซ์ โดยใช้ DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydroxyl) เป็นโมเดลในการศึกษา พบว่ากรดไฮยาลูโรนิกที่ไม่ผ่านการทรีทด้วยพลาสมาซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล 2400 กิโลดาลตัน ไม่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ โดยสังเกตได้จากค่าความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระมีค่าเท่ากับศูนย์ เมื่อนำตัวอย่างกรด

ไฮยาโลโรนิกที่ผ่านการทรีตด้วยพลาสมาเป็นเวลา 15 นาที ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล 200 กิโลดาลตัน มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระพบว่ามีความสูงขึ้น 10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างจากตัวอย่างที่ไม่ผ่านการทรีตด้วยพลาสมาอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งให้เห็นว่าการลดลงของน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาโลโรนิกชักนำให้เกิดการยับยั้งอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อลดน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาโลโรนิกอย่างต่อเนื่องจาก 200 กิโลดาลตัน เป็น 79 กิโลดาลตัน 34 กิโลดาลตัน และ 19 กิโลดาลตัน พบว่าความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระมีความสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยกรดไฮยาโลโรนิกที่มีน้ำหนักโมเลกุล 19 กิโลดาลตัน จะทำให้ค่าความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระสูงสุด 68 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามเมื่อนำตัวอย่างที่มีน้ำหนักโมเลกุล 9.5 กิโลดาลตัน มาทดสอบพบว่าค่าที่ได้ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ

กลไกการยับยั้งอนุมูล DPPH แสดงดังรูปที่ 4-9 โดยอนุมูล DPPH ประกอบด้วยอนุมูล Hydroxyl radical (OH[•]) และ Peroxide radical (ROO[•]) โมเลกุลชนิดนี้เป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียร ก่อให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่และว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยา สามารถทำปฏิกิริยาได้กับสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant, AH) ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระจะเกิดการให้อิเล็กตรอนอิสระแก่อนุมูล DPPH และเกิดเป็นอนุมูลอิสระใหม่ที่เกิดขึ้น (A[•]) ซึ่งจะทำปฏิกิริยาต่อไป (radical disproportionation) ได้เป็นโมเลกุลที่มีความคงตัว จากนั้นปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระจะสิ้นสุดลง ส่งผลให้ DPPH ไม่เป็นอนุมูลอิสระอีกต่อไป [23,24] ในกระบวนการพลาสมาวิภาคของเหลวพบว่าความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระเป็นผลมาจากการย่อยสลายน้ำหนักโมเลกุลกรดไฮยาโลโรนิกด้วยพลาสมา พันธะระหว่าง D-glucuronic acid และ N-acetyl glucosamine จะถูกสลาย ส่งผลให้เกิดพันธะคู่ที่มีความสามารถในการจับกับอนุมูลอิสระ (รูปที่ 4-10) [5,25] ดังนั้นกรดไฮยาโลโรนิกที่ผ่านการทรีตด้วยพลาสมาที่เวลาเพิ่มขึ้นส่งผลให้น้ำหนักโมเลกุลลดลงและเกิดพันธะคู่ระหว่างการย่อยสลายมากขึ้นจึงสามารถจับกับอนุมูลอิสระได้มากขึ้นเช่นเดียวกัน ในทางกลับกันกรดไฮยาโลโรนิกที่ไม่ผ่านการทรีตด้วยพลาสมาจะประกอบไปด้วยพันธะระหว่าง D-glucuronic acid และ N-acetyl glucosamine ที่เชื่อมต่อกันเป็นสายยาวจึงไม่ส่งผลต่อการยับยั้งอนุมูลอิสระ ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานการวิจัยโดย Ke C. และคณะ (2011) [12] ที่ศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของกรดไฮยาโลโรนิกน้ำหนักโมเลกุลต่ำกับกรดไฮยาโลโรนิกน้ำหนักโมเลกุลสูงพบว่ากรดไฮยาโลโรนิกน้ำหนักโมเลกุลต่ำมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ดีกว่ากรดไฮยาโลโรนิกน้ำหนักโมเลกุลสูง เมื่อนำตัวอย่างกรดไฮยาโลโรนิกมาทดสอบการต้านอนุมูลอิสระกับหนู พบว่ากรดไฮยาโลโรนิกน้ำหนักโมเลกุลต่ำสามารถสร้างภูมิคุ้มกันและยังสามารถสร้างเอนไซม์ในการกำจัด

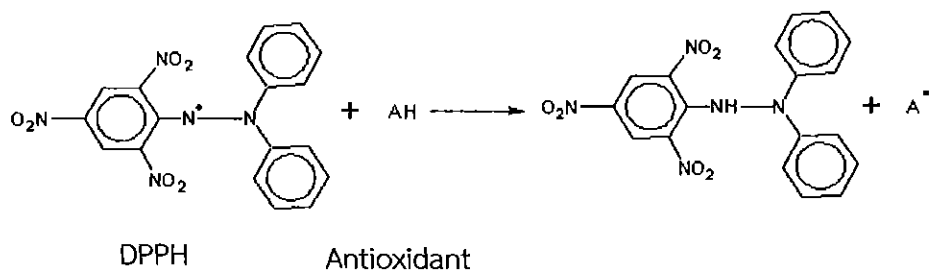
อนุมูลอิสระให้กับหนูได้เป็นอย่างดี อย่างไรก็ตามในกระบวนการพลาสมาวิฏภาคของเหลวผลของการยับยั้งอนุมูลอิสระของกรดไฮยาลูโรนิกที่เวลา 120 นาที น้ำหนักโมเลกุล 9.5 กิโลดาลตัน ไม่มีการเปลี่ยนแปลงค่าอย่างมีนัยสำคัญ ผลดังกล่าวอาจเป็นเพราะในระหว่างกระบวนการพลาสมาวิฏภาคของเหลวเกิดโมเลกุลของไฮโดรเจน ซึ่งมีความสามารถจับกับพันธะที่ถูกย่อยสลายในระหว่างกระบวนการพลาสมาเพื่อให้โมเลกุลที่ถูกย่อยสลายเกิดความเสถียร ส่งผลให้เกิดการแข่งขันกันระหว่างอนุมูล DPPH และโมเลกุลของไฮโดรเจนเพื่อจับกับพันธะที่ถูกย่อยสลาย แต่อย่างไรก็ตามเพื่อเป็นการยืนยันการวิเคราะห์ผลดังกล่าวจึงจำเป็นต้องมีการเพิ่มเติมเทคนิคการวิเคราะห์อื่นๆ ในการศึกษาผลของการยับยั้งอนุมูลอิสระของกรดไฮยาลูโรนิกครั้งต่อไป



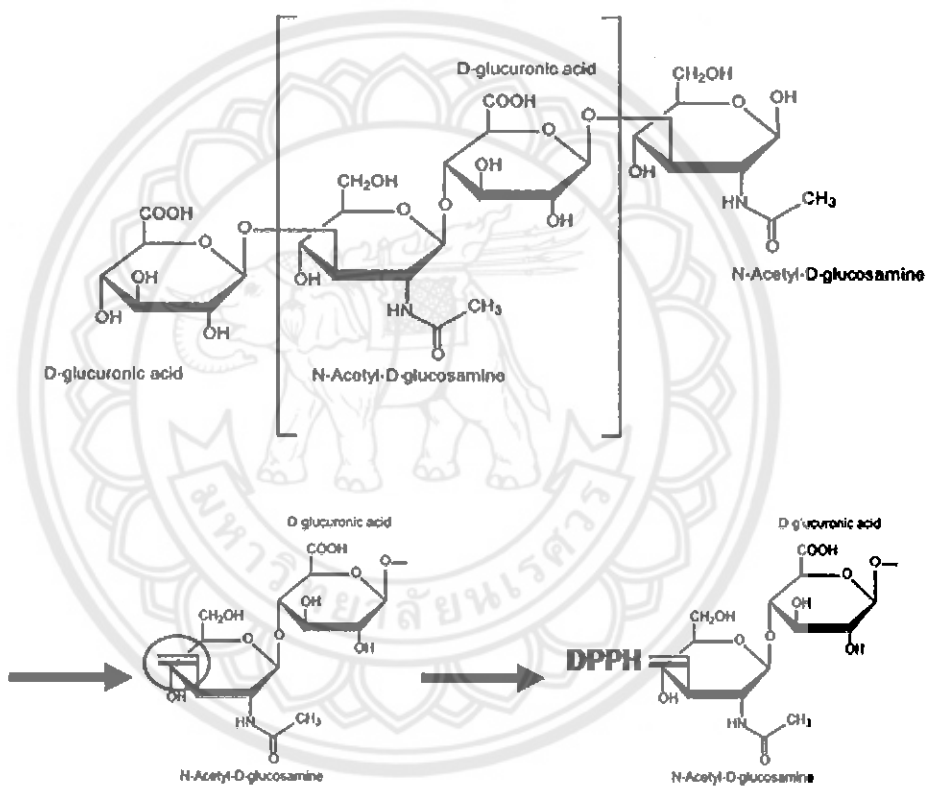
รูปที่ 4-8 ผลของการยับยั้งอนุมูลอิสระของกรดไฮยาลูโรนิกก่อนและหลังการย่อยสลายโดยกระบวนการพลาสมาวิฏภาคของเหลวด้วยเทคนิค DPPH radical scavenging activity โดยใช้อิเล็กโทรดชนิดเหล็กที่เวลาต่างๆ กัน (a b c d และ e แสดงการเปรียบเทียบนัยสำคัญ $P < 0.05$ ช่วงความเชื่อมั่น 95%)

*ตัวอักษรภาษาอังกฤษแตกต่างกันแสดงถึงการเปรียบเทียบมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

**ตัวอักษรภาษาอังกฤษเหมือนกันแสดงถึงการเปรียบเทียบไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ



รูปที่ 4-9 ปฏิกริยาระหว่าง DPPH กับสารต้านอนุมูลอิสระ โดยสารต้านอนุมูลอิสระให้อิเล็กตรอนแก่ DPPH [23]



รูปที่ 4-10 การย่อยสลายพันธะระหว่าง D-glucuronic acid และ N-acetyl glucosamine ของกรดไฮยาลูโรนิก [26]

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

5.1 สรุปผลการทดลอง

การศึกษาการย่อยสลายน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกโดยกระบวนการพลาสมา วิทยุภาคของเหลว พบว่าความหนืดของกรดไฮยาลูโรนิกที่ผ่านการทรีตด้วยพลาสมาวิทยุภาคของเหลว ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเพิ่มเวลาในการทรีต เช่นเดียวกับน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกหลัง ผ่านกระบวนการทรีตด้วยพลาสมาวิทยุภาคของเหลว โดยเมื่อเวลาในการทรีตพลาสมาเพิ่มขึ้นส่งผลให้ น้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกลดลง โดยการใช้ข้อวิเคราะห์สามารถลดน้ำหนักโมเลกุล ของกรดไฮยาลูโรนิกจาก 2,400 กิโลดาลตัน เหลือเพียง 9.5 กิโลดาลตัน เมื่อเปรียบเทียบ ความสามารถในการย่อยสลายน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกโดยใช้ข้อวิเคราะห์ทั้งสแตน ทองแดงและเหล็ก ส่งผลต่ออัตราการย่อยสลายน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกเป็นอย่างมาก โดยข้อวิเคราะห์เหล็กส่งเสริมการย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิกได้ดีกว่าทองแดงและทั้งสแตน ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาจลนพลศาสตร์ของการย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิก โดยค่าคงที่อัตราการ ย่อยสลายของเหล็กมีค่าคงที่อัตราการย่อยสลายสูงสุด 4.62×10^{-4} ต่อนาที ทองแดงและทั้งสแตน 5.36×10^{-5} ต่อนาที และ 1.98×10^{-5} ต่อนาที ตามลำดับ โดยกระบวนการพลาสมาวิทยุภาคของเหลวนี้ ส่งผลต่อการลดลงของน้ำหนักโมเลกุลเพียงอย่างเดียว แต่ไม่ส่งผลทำให้โครงสร้างทางเคมีของกรด ไฮยาลูโรนิกเปลี่ยนแปลงไป และเมื่อนำตัวอย่างกรดไฮยาลูโรนิกก่อนและหลังผ่านกระบวนการทรีต ด้วยพลาสมาวิทยุภาคของเหลวมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระพบว่ากรดไฮยาลูโรนิก ที่ไม่ผ่านการทรีตด้วยพลาสมาไม่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ ในทางกลับกันกรดไฮยาลูโรนิกที่ผ่าน การทรีตด้วยพลาสมาสามารถต้านอนุมูลอิสระได้และเมื่อเพิ่มเวลาในการย่อยสลายกรด ไฮยาลูโรนิกส่งผลให้กรดไฮยาลูโรนิกที่มีน้ำหนักโมเลกุลลดลงเกิดการจับกับอนุมูลอิสระได้ดีขึ้น และเกิดการยับยั้งอนุมูลอิสระได้มากขึ้น โดยที่เวลาการทรีตพลาสมา 90 นาที ด้วยข้อวิเคราะห์เหล็ก กรดไฮยาลูโรนิกมีน้ำหนักโมเลกุล 19 กิโลดาลตัน มีค่าความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระสูงที่สุด 68.13 เปอร์เซ็นต์ และที่เวลาการทรีตพลาสมา 120 นาที กรดไฮยาลูโรนิกมีน้ำหนักโมเลกุล 19 กิโลดาลตัน ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระไม่มีการเปลี่ยนแปลงค่าอย่างมีนัยสำคัญ

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 การศึกษาการย่อยสลายน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกด้วยกระบวนการ พลาสมาวิทยุภาคของเหลวถึงแม้ว่าจะได้กรดไฮยาลูโรนิกที่มีความหนืดต่ำ น้ำหนักโมเลกุลลดลง ส่งผล

ให้สามารถนำไปใช้งานได้ง่าย และใช้เวลาในการย่อยสลายสั้น แต่อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งต่อไป ควรเพิ่มเติมการวิเคราะห์ต้นทุนที่ใช้ในการเตรียมกรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนักโมเลกุลต่ำเพื่อที่จะสามารถนำไปใช้งานได้จริง

5.2.2 ควรศึกษาทดลองการซึมผ่านของกรดไฮยาลูโรนิกน้ำหนักโมเลกุลต่ำต่อความสามารถในการซึมผ่านได้ในผิวหนังเพื่อสามารถนำไปประยุกต์ใช้งานได้จริงในด้านเวชสำอางและเภสัชกรรม



เอกสารอ้างอิง

- [1] Kanchana, S., Arumugam, M. (2014). Alternative exploration of hyaluronic acid from marine superstore. *Biological Macromolecules* 4, 169-173.
- [2] Kanchana S., Arumugam M., Giji S., Balasubramanian T. (2013). Isolation, characterization and antioxidant activity of hyaluronic acid from marine bivalve mollusc *Amussium pleuronectus* (Linnaeus, 1758). *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre* 2, 1-7.
- [3] Chen, S., Chen, H., Gao, R., Li, L., Yang, X., Wu, Y., Hu, X. (2015). Degradation of hyaluronic acid derived from tilapia eyeballs by a combinatorial method of microwave, hydrogen peroxide, and ascorbic acid. *Polymer Degradation and Stability* 112, 117-121.
- [4] Sadhasivam, G., Muthuvel, A., Pachaiyappan A., Thangavel, B. (2013). Isolation and characterization of hyaluronic acid from the liver of marine stingray *Aetobatus narinari*. *Biological Macromolecules* 54, 84-89.
- [5] Choi, J., Kim, J.K., Kim, J.H., Kweon K., Lee, J., (2010). Degradation of hyaluronic acid powder by electron beam irradiation, gamma ray irradiation, microwave irradiation and thermal treatment: A comparative study. *Carbohydrate Polymers* 79, 1080-1085.
- [6] Wu Yue. (2012) Preparation of low-molecular-weight hyaluronic acid by ozone treatment. *Carbohydrate Polymers* 89, 709-712.
- [7] Alkrad, J., Mrestani, Y., Stroehl, D., Wartewig, S., Neubert, R. (2003). Characterization of enzymatically digested hyaluronic acid using NMR, Raman, IR, and UV-Vis spectroscopies. *Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 31, 545-550.
- [8] Drímalová, E., Velebný, V., Sasinková, V. Hromádková, Z., Ebringerová, A. (2005). Degradation of hyaluronan by ultrasonication in comparison to microwave and conventional heating. *Carbohydrate Polymers* 61, 420-426.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- [9] Maharjan, A., Pilling, D., Gomer, R. (2011). High and Low Molecular Weight Hyaluronic Acid Differentially Regulate Human Fibrocyte Differentiation. *Biochemistry and Cell Biology*.
- [10] Agostino, A., Stellavato, A., Corsuto L., Diana, P., Filosa, R., Gatta, A., Rosa, Mario., Schiraldi, Chiara. (2017) Is molecular size a discriminating factor in hyaluronan interaction with human cells. *Carbohydrate Polymers* 157, 21–30.
- [11] Lewandowska, K., Sionkowska, A., Grabska, S., Kaczmarek, Beata. (2016). Surface and thermal properties of collagen / hyaluronic acid blends containing chitosan. *Biological Macromolecules* 92, 371–376.
- [12] Ke, C., Sun L., Qiao D., Wang D., Zeng X. (2011). Antioxidant activity of low molecular weight hyaluronic acid. *Food and Chemical Toxicology* 49, 2670–2675.
- [13] Gua, Z., Caia, Q., Hea, Y., Fub, T., Li, F. (2010). Degradation of hyaluronan by an electrochemical process. *Carbohydrate Polymers* 82, 521–523
- [14] Takai O. Solution plasma processing (SPP). (2008). *Pure Appl. Chem* 80, 2003–2011.
- [15] Prasertsung, I., Damrongsakkul, S., Terashima, C., Saito, N., Takai, O. (2013). Preparation of low molecular weight chitosan using solution plasma system. *Carbohydrate Polymers* 87, 2745–2749.
- [16] รศ.ดร.จตุพร วุฒิกนกกาญจน์ คณะพลังงาน สิ่งแวดล้อมและวัสดุ มหาวิทยาลัยพระจอมเกล้าธนบุรี. เอกสารประกอบการสอน วิชา MTT656 Polymer Characterization and Analysis
- [17] ผศ.ดร.สุขอังคณา ลี. เอกสารประกอบการสอนรายวิชา 1302423 Industrial Materials Testing. บทที่ 10 การวิเคราะห์ธาตุส่วนผสม ทางเคมี Chemical composition analysis.
- [18] “เทคนิค UV-VIS Spectrophotometer” [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก: [http://e-book.ram.edu/e-book/f/FY473\(51\)/FY473-8.pdf](http://e-book.ram.edu/e-book/f/FY473(51)/FY473-8.pdf)

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- [19] สำนักงานเลขานุการศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์. มาทำความเข้าใจกับเครื่อง FT-IR กันเถอะ [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก: www.sec.psu.ac.th
- [20] Necas, J., Bartosikova, L., Brauner, P., Kolar J. (2008). Hyaluronic acid (hyaluronan): a review. *Veterinarni Medicina* 53, 397–411.
- [21] Tantiplapol, T., Singsawat Y., Narongsil, N., Damrongsakkul, S., Saito, N., Prasertsung, I. (2015). Influences of solution plasma conditions on degradation rate and properties of chitosan. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 32, 116-120.
- [22] Sarahney, H., Mao X., Alshawabkeha, A.N. (2012). Role of iron anode oxidation on transformation of chromium by Electrolysis. *Electrochim Acta* 86, 96-101.
- [23] Musa, K.H., Abdullah, A., Al-Haiq, A. (2016). Determination of DPPH free radical scavenging activity: Application of artificial neural networks. *Food Chemistry* 194, 705-711.
- [24] Sittikijyothin, W., Cherdwongcharoensuk, D. (2011). FreeRadical Scavenging Activity of Seed Coat Extracts of Sweet and Sour Tamarinds. *Burapha Sci. J.* 1, 47-55.
- [25] Kim, J.K., Srinivasan, P., Kim, J.H., Choi, J., Park, J.H., Byun, M., Lee J. (2018). Structural and antioxidant properties of gamma irradiated hyaluronic acid. *Food Chemistry* 109, 763–770.
- [26] Sigma- aldrich a part of Merck. Glycosaminoglycans and Proteoglycans. *Glycobiology Analysis Manual, 2nd Edition*.
[ออนไลน์] เข้าถึงจาก: <http://www.sigmaaldrich.com/technicaldocuments/articles/biology/glycobiology/glycosaminoglycans-and-proteoglycans.html>
- [27] Tømmeraas, K., Melander, C. (2008). Kinetics of Hyaluronan Hydrolysis in Acidic Solution at Various pH Values. *Biomacromolecules* 9, 1535–1540.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- [28] Prasertsunga, I., Chutinate, P., Watthanaphanit, A., Saitoe, N., Damrongsakkul, S. (2017). Conversion of cellulose into reducing sugar by solution plasma process (SPP). Carbohydrate Polymers 172, 230-236
- [29] วิทยาศาสตร์พอลิเมอร์เบื้องต้น. บทที่ 3 การตรวจสอบลักษณะเฉพาะของพอลิเมอร์. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. [ออนไลน์] เข้าถึงจาก: [http://www.science.mju.ac.th/chemistry/download/s_muangpil/คม% 20441%20บทที่%203%20การตรวจสอบลักษณะเฉพาะของพอลิเมอร์.pdf](http://www.science.mju.ac.th/chemistry/download/s_muangpil/คม%20441%20บทที่%203%20การตรวจสอบลักษณะเฉพาะของพอลิเมอร์.pdf)





ภาคผนวก

ตัวอย่างการคำนวณ

อัตราการย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิกเมื่อพริทด้วยคลื่นวิทยุเล็ทโทรตังสเดน ความถี่พลาสมา 15 กิโลเฮิรตซ์ ที่เวลา 0 ถึง 60 นาที

จากสมการ (3.3)

$$\frac{1}{M_{w(t)}} = kt + \frac{1}{M_{w0}}$$

เมื่อ

ค่า $M_{w0} = 2.4 \times 10^6$ ดาลตัน

ค่า $M_{wt} = 1.9 \times 10^5$ ดาลตัน (จากตาราง 4-1)

หาค่า k จากความสัมพันธ์ของสมการ

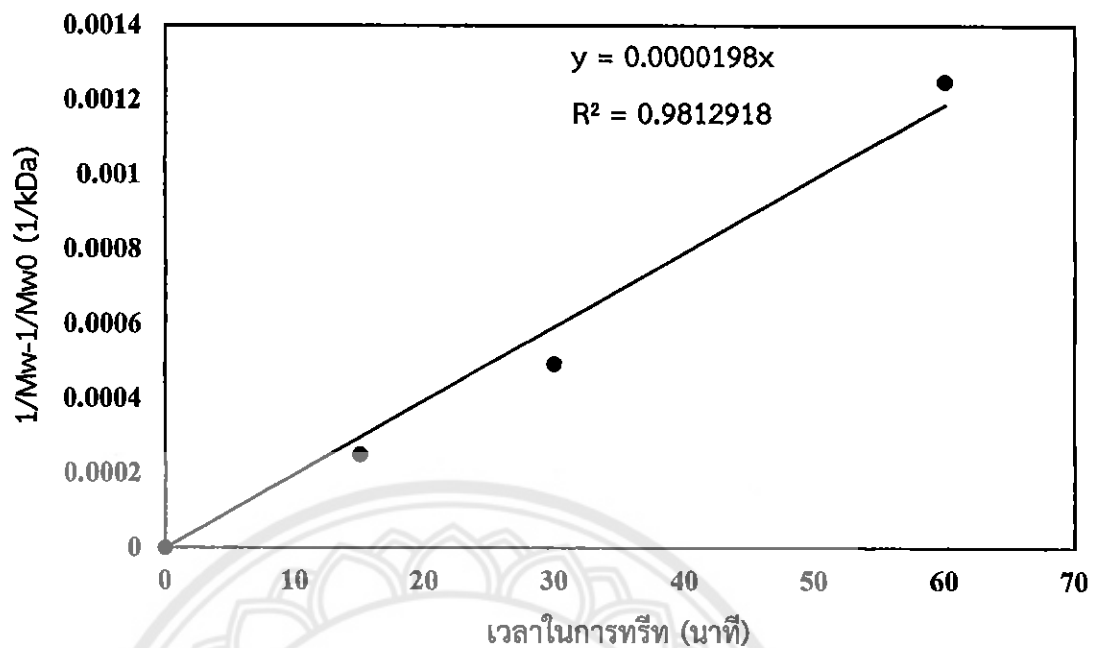
$$\frac{1}{M_{w(t)}} = kt + \frac{1}{M_{w0}}$$

จะได้ว่า

$$\frac{1}{M_{wt}} - \frac{1}{M_{w0}} = kt$$

ดังนั้น จะได้ว่าค่าความชันของกราฟเท่ากับ k

ซีวอเล็กโทรดทั้งสแตน



รูป ก แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $1/M_w - 1/M_{w0}$ (1/kDa) กับ เวลาในการทรีท โดยใช้ซีวอเล็กโทรด
ทั้งสแตน

ดังนั้น

$$k = 1.98 \times 10^{-5} \text{ min}^{-1}$$

ประวัติผู้จัดทำโครงการ



ชื่อ : นางสาวณัฐรา กล้าณรงค์
 ภูมิลำเนา : 220 หมู่ 4 ต.วังเหนือ อ.วังเหนือ
 จ.ลำปาง

ประวัติการศึกษา :

- จบระดับมัธยมศึกษาจากโรงเรียนวังเหนือ
 วิทยาคม
 จ.ลำปาง
- ปัจจุบันกำลังศึกษาในระดับปริญญาตรี ชั้น
 ปีที่ 4
 สาขาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์
 มหาวิทยาลัยนเรศวร

E-mail : nn.nattha@hotmail.co.th



ชื่อ : นายศรัญย์ อินสิงห์
 ภูมิลำเนา : 7 หมู่ 13 ต.บ้านดง อ.ชาติตระการ
 จ.พิษณุโลก

ประวัติการศึกษา :

- จบระดับมัธยมศึกษาจากโรงเรียนเตรียม
 อุดมภาคเหนือ จ.พิษณุโลก
- ปัจจุบันกำลังศึกษาในระดับปริญญาตรี ชั้น
 ปีที่ 4
 สาขาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์
 มหาวิทยาลัยนเรศวร

E-mail : jobsarun_insing@hotmail.com